

**Prevalencia de infección por *Clostridium difficile* en pacientes  
hospitalizados en dos Unidades de Cuidado Intensivo de  
referencia de la ciudad de Pereira-Colombia**

**Autores:**

**Carlos Alfredo Pedroza Mosquera: Residente Medicina Crítica y  
Cuidados intensivos UTP**

**Henry Andrés Muñoz León: Residente Medicina Crítica y Cuidados  
intensivos UTP**

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD ESPECIALIZACIÓN EN  
MEDICINA CRÍTICA Y CUIDADO INTENSIVO  
PEREIRA  
2018**

**Prevalencia de infección por *Clostridium difficile* en pacientes  
hospitalizados en dos Unidades de Cuidado Intensivo de  
referencia de la ciudad de Pereira-Colombia**

**TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR EL TÍTULO DE ESPECIALISTAS EN  
MEDICINA CRÍTICA Y CUIDADO INTENSIVO**

**Directores de tesis:**

**Dr. José Fernando Gómez González**

**Médico especialista en Medicina Crítica y Cuidado Intensivo**

**Universidad Tecnológica de Pereira**

**Dr. Germán Alberto Moreno Gómez**

**Médico Magister en Epidemiología clínica Pontificia Universidad  
Javeriana. PhD Salud Pública, Instituto Nacional de Salud Pública de  
México**

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD ESPECIALIZACIÓN EN  
MEDICINA CRÍTICA Y CUIDADO INTENSIVO  
PEREIRA  
2018**

## NOTA DE ACEPTACIÓN

---

---

---

---

---

---

Firma del Presidente del Jurado

---

Firma del Jurado

---

Firma del Jurado

Pereira, octubre de 2018

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo investigativo lo dedicamos principalmente a Dios, por ser el inspirador y darnos fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.

A nuestros padres, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ustedes hemos logrado llegar hasta aquí y convertirnos en lo que somos. Ha sido un orgullo y un privilegio ser sus hijos, son los mejores padres.

A nuestras esposas, por estar siempre presentes, acompañándonos y por el apoyo moral que nos brindaron a lo largo de esta etapa de nuestras vidas.

A todas las personas que nos han apoyado y han hecho que el trabajo se realice con éxito, en especial a aquellos que nos abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos a Dios por bendecirnos la vida, por guiarnos a lo largo de nuestra existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Gracias a nuestros padres: Adolfo y Editza, y Henry y Lolita; esposas: Diana y Lina; hermanos: Dalyn, Boris, Yoiner, Juan, Yuriany, Adriana, Yamit; y nuestros hijos: Luciana y Juan Pablo por ser los principales promotores de nuestros sueños, por confiar y creer en nuestras expectativas, por los consejos, valores y principios que nos han inculcado.

Agradecemos a nuestros docentes del programa de Medicina Crítica y Cuidado Intensivo UTP, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de nuestra especialización. De manera especial, agradecemos al Dr. José Fernando Gómez González, Dr. German Alberto Moreno Gómez, tutores de nuestro proyecto de investigación, y a la Dra. Karen Melissa Ordoñez quienes nos han guiado con su paciencia y su rectitud como docentes. Agradecemos también a los pacientes de la Clínica los Rosales, Hospital Universitario San Jorge de Pereira, a los microbiólogos y bacteriólogos de esta instituciones, debido que, sin su valioso aporte, esta investigación no hubiera sido posible.

# TABLA DE CONTENIDO

Pág.

<b>NOTA DE ACEPTACIÓN.....</b>	<b>3</b>
<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>4</b>
<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>5</b>
<b>TABLA DE CONTENIDO.....</b>	<b>6</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>9</b>
<b>ÍNDICE DE GRÁFICOS.....</b>	<b>10</b>
<b>ÍNDICE DE ANEXOS.....</b>	<b>11</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>12</b>
<b>1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>12</b>
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	14
<b>2. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>15</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>16</b>
OBJETIVO GENERAL.....	16
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
<b>4. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>17</b>
Perspectivas históricas.....	17
Microorganismo y Patogénesis.....	18
Enzimas.....	19
Toxinas A y B.....	19
Actividad de las toxinas.....	20
Estructura de las toxinas.....	20
Cepas toxA-, toxB+.....	21
Toxina binaria.....	21
<b>Epidemiología.....</b>	<b>21</b>
<b>Manifestaciones clínicas.....</b>	<b>24</b>
Portadores Asintomáticos de <i>C. difficile</i> .....	24
Presentación Clínica.....	25
Colitis fulminante (íleo paralítico, megacolon tóxico, perforación colónica).....	27
<b>Factores de Riesgo.....</b>	<b>28</b>
Edad.....	28
Hospitalización.....	29
<b>Antibióticos.....</b>	<b>29</b>
Otros Factores de Riesgo.....	30
<b>Diagnóstico.....</b>	<b>31</b>
Diagnóstico de Laboratorio (Microbiológico).....	31
Métodos Diagnósticos de Laboratorio.....	32
Ensayo de Citotoxicidad.....	32
Cultivo Toxigénico.....	33
EIAs- Detección de Toxina.....	33
EIAs- Detección de Antígeno Glutamato Deshidrogenasa.....	34
Pruebas Moleculares.....	34

Algoritmos Diagnósticos .....	35
Evaluación Endoscópica.....	36
Diagnóstico de Imagen .....	36
<b>Tratamiento.....</b>	<b>36</b>
Tratamiento antibiótico.....	37
Tratamientos Alternativos .....	39
<b>5. METODOLOGÍA .....</b>	<b>41</b>
<b>Tipo de estudio .....</b>	<b>41</b>
<b>Población Objeto .....</b>	<b>41</b>
<b>Tamaño de muestra y muestreo .....</b>	<b>41</b>
Universo:.....	41
Muestra.....	41
<b>Criterios de Selección .....</b>	<b>42</b>
Criterios de Inclusión: .....	42
Criterios de Exclusión:.....	42
<b>Definición y operacionalización de las variables .....</b>	<b>42</b>
Recolección y procesamiento .....	46
<b>Control de sesgos.....</b>	<b>46</b>
Sesgo de información: .....	46
Sesgo de medición: .....	47
Sesgo de muestreo: .....	47
Sesgo de análisis: .....	47
Sesgo de interpretación: .....	47
Plan de análisis.....	47
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>48</b>
Análisis bivariado .....	52
Modelo de regresión.....	54
<b>7. DISCUSIÓN .....</b>	<b>56</b>
<b>8. FORTALEZAS .....</b>	<b>64</b>
<b>9. LIMITACIONES.....</b>	<b>65</b>
<b>10. CONCLUSIONES.....</b>	<b>66</b>
<b>11. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>67</b>
<b>II. ANEXOS .....</b>	<b>69</b>
<b>III. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>74</b>





## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1. La escala descriptiva y visual de Bristol.....</b>	<b>25</b>
Tabla 2. Clasificaciones de severidad según las manifestaciones clínicas .....	26
<b>Tabla 3. Clasificación según el momento de la presentación, con relación al momento del ingreso .....</b>	<b>27</b>
Tabla 4. Relación edad y Mortalidad en pacientes ICD.....	29
Tabla 5. Probabilidad de ICD según número de antibióticos usados .....	30
Tabla 6. Comparación de métodos diagnósticos para <i>C. difficile</i> con Cultivo toxígeno.....	35
<b>Tabla 7. Tratamiento de la infección por <i>Clostridium difficile</i>.....</b>	<b>38</b>
Tabla 8. Caracterización sociodemográfica de los pacientes con diarrea atendidos en 2 centros de referencia, Pereira - Colombia.....	48
Tabla 9. Características clínicas de los pacientes con diarrea atendidos en 2 centros de referencia, Pereira - Colombia .....	49
Tabla 10. Factores de riesgo identificados en los pacientes con diarrea atendidos en 2 centros de referencia, Pereira - Colombia.....	51
Tabla 11. Antibióticos utilizados previamente en los pacientes con diarrea atendidos en 2 centros de referencia, Pereira - Colombia.....	51
Tabla 12. Estudios paraclínicos de los pacientes con diarrea atendidos en 2 centros de referencia, Pereira - Colombia .....	52
Tabla 13. Análisis bivariado de los pacientes con infección por <i>Clostridium difficile</i> , atendidos en 2 centros de referencia, Pereira - Colombia.....	53
<b>Tabla 14. Modelo de regresión de Poisson de los pacientes con infección por <i>Clostridium difficile</i>, atendidos en 2 centros de referencia, Colombia .....</b>	<b>55</b>

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
Figura 1. Diagrama de pacientes atendidos en las 2 entidades. ....	48

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Instrumento de recolección de la información .....	69
<b>Anexo 2. Formato de solicitud de realización de la prueba GDH, Toxina A y B por el laboratorio de las instituciones. ....</b>	<b>73</b>
Anexo 3. Consentimiento informado.....	73

## I. INTRODUCCIÓN

*Clostridium difficile* (*C. difficile*) es un bacilo gram positivo, formador de esporas anaeróbico y la principal causa de diarrea asociada al cuidado de la salud (1). La infección por *Clostridium difficile* (ICD) es un importante problema de salud pública en los países desarrollados (2). Algunos pacientes permanecen asintomáticos después de la exposición a *C. difficile*; mientras que, en otros, los síntomas de la enfermedad pueden variar de diarrea leve a colitis fulminante (3). Los médicos, a veces, no sospechan ICD en pacientes con diarrea en la unidad de cuidados intensivos (UCI), y muchos laboratorios de microbiología aplican técnicas de diagnóstico subóptimas; ya que, no utilizan los algoritmos propuestos por las sociedades científicas (4).

La gran mayoría del conocimiento sobre ICD, en el ámbito de la UCI, se deriva de estudios retrospectivos sin un diagnóstico predefinido o de estudios realizados durante los brotes (5). El objetivo principal del estudio es evaluar la prevalencia de ICD en pacientes críticamente enfermos con diarrea, que cumplen los criterios clínicos. Los objetivos específicos son: describir la presentación clínica, los factores de riesgo para el desarrollo de ICD más prevalentes UCI.

### 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el paciente en estado crítico, independiente del motivo por cual se ingresó a la unidad de cuidados intensivos (UCI), la diarrea representa una de las principales complicaciones gastrointestinales, con una prevalencia del 15% al 38% y con una incidencia global del 5% al 63% (6-9).

El hallazgo de deposiciones líquidas, en este tipo de pacientes, no debe ser considerado como una manifestación banal aislada, debe ser considerado como un factor de mal pronóstico; puesto que, impide la adecuada entrega de nutrientes por vía enteral. Esto prolonga el tiempo de hospitalización hasta en 24 días tras el diagnóstico, según algunos autores, y presenta morbilidad importante, como: estado choque circulatorio, disfunción multiorgánica y

trastornos electrolíticos leves a severos, lo cual genera costos adicionales en el cuidado(10).

La diarrea en los pacientes en estado crítico tiene una etiología multifactorial, se ha asociado a la administración de nutrición enteral, fármacos, alteración en la motilidad intestinal, infecciones, especialmente *Clostridium difficile* y la propia patología o motivo de ingreso a la unidad (7).

La infección por *Clostridium difficile* (ICD) es una de las causas más importantes de diarrea asociado a los cuidados de la salud, la cual ha venido presentando un aumento exponencial (11). Por ejemplo, en los Estados Unidos presenta un comportamiento en el que tiende a duplicarse: de 261 casos por 100.000 para 1993 a 546 por 100.000 en 2003(12). Igualmente, cabe destacar que la infección adquirida en la comunidad por el mismo germen, se encuentra en crecimiento (13). Para el diagnóstico de ICD se requiere de una alta sospecha clínica teniendo, de acuerdo a la presencia de factores de riesgo y antecedentes personales, asociando a ayudas diagnósticas para su confirmación (14).

La principal manifestación clínica de la infección por *Clostridium difficile* es la diarrea, asociada a múltiples síntomas inespecíficos, lo cual dificulta su diagnóstico y hace que se requiera, de manera obligada, las ayudas diagnósticas para su confirmación(15). La transmisión de la infección puede ser por contacto directo entre enfermos o cuidadores, personal sanitario, instrumental contaminado, fómites contaminados y/o la presencia de colonización intestinal asintomática (16, 17).

Entendiendo las diversas razones culturales, técnicas y/o económicas que caracterizan a las UCI de países pobres y en vía de desarrollo, en la aparición de diarrea por *C. difficile* de pacientes críticos, los factores de riesgo pueden variar de un lugar a otro. Se hace necesario conocer la epidemiología local de esta entidad e identificar tempranamente estos factores asociados, a fin de modificarlos con anticipación, evitar la aparición de la enfermedad y, de esa

forma, tratar de minimizar los costos sanitarios y las cifras de mortalidad atribuidas cada año.

### **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuál es la prevalencia y posibles factores de riesgos asociados al desarrollo de infección por *Clostridium difficile* en dos unidades de cuidados intensivos de referencia en la ciudad de Pereira - Colombia, desde el 1ero enero, al 30 de junio de 2018?

## 2. JUSTIFICACIÓN

La diarrea causada *Clostridium difficile* es una importante enfermedad de adquisición nosocomiales, y según los últimos reportes, de origen comunitario con resultante aumento de la morbilidad y mortalidad, lo cual ocasiona elevados costos sociales y económicos (8). Para detener sus graves complicaciones y su aumento en la estancia hospitalaria, se realizan, cada vez más, estudios sobre esta infección a nivel mundial. Dichos estudios sirven como base para establecer sistemas de vigilancia epidemiológica y así poder generar sistemas de lucha contra las infecciones de este origen y adoptar medidas de control. Epidemiológicamente, las tasas de infección constituyen unos excelentes indicadores de proceso, estructura y resultado de la actividad hospitalaria.

La información que se desprende de la vigilancia constituirá un valioso elemento de conocimiento para todo el personal que desempeña labores asistenciales en una Unidad de Cuidados Intensivos. Este nuevo conocimiento permitirá generar una visión más amplia acerca de la situación actual de dicha infección en el ámbito colombiano y así poder orientar y dirigir las actividades de control de la misma.

Se consideran indicadores de la transcendencia de infección por *Clostridium difficile*: el aumento de la estancia hospitalaria estimada en Unidades de Cuidados Intensivos (UCIs) por encima del valor promedio y los costes intangibles en mortalidad, ya que esta es una de las principales causas bacterianas asociadas a muerte en Estados Unidos. No se dispone de datos epidemiológicos de esta infección en población colombiana; por lo tanto, es necesario documentar la tendencia de la enfermedad, la proporción o el número de frecuencia de la infección, los factores asociados, los antecedentes patológicos, así como el manejo instaurado y las complicaciones presentadas durante la estancia hospitalaria. Esta información es indispensable para evaluar la magnitud del problema en la región.

### 3. OBJETIVOS

#### OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia de la infección por *Clostridium difficile* en pacientes hospitalizados en la UCI del Hospital Universitario San Jorge y Clínica los Rosales, durante el periodo comprendido entre el 1 de enero y 30 de junio 2018, así como caracterizar las variables clínicas, demográficas, biosicosociales y factores de riesgo de los pacientes objeto de esta investigación.

#### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir las características sociodemográficas y clínicas de los pacientes con diarrea y con infección por *Clostridium difficile*.
- Describir y comparar la frecuencia de presentación de los factores de riesgo para el desarrollo de infección por *Clostridium difficile* en pacientes hospitalizados en la UCI con los de otras poblaciones a nivel nacional e internacional.
- Identificar el tipo de complicaciones asociadas a la ICD.
- Determinar la frecuencia en el uso de los medicamentos previo a la ICD en la UCI con relación a la infección.



## 4. MARCO TEÓRICO

### Perspectivas históricas

*Clostridium difficile* fue descrito por primera vez por Hall y O'Toole en 1935 como parte de la microbiota normal del intestino de los recién nacidos, en ese momento fue denominado como *Bacillus difficile*, por su difícil aislamiento. Tres años más tarde, fue renombrado como *Clostridium difficile*, cuando logran demostrar que producía una toxina que era extremadamente letal en ratones (18). En la actualidad, Lawson y sus colegas propusieron un nuevo nombre *Clostridiodes difficile* en vez de *Clostridium difficile* (19). Sin embargo, al día de hoy se siguen aceptando ambos nombres, que se destacan en la nomenclatura, y ambos pueden utilizarse con fines científicos, clínicos o comerciales (20).

La primera descripción de colitis pseudomembranosa (CPM) fue en 1893, en una paciente de 22 años, que fue sometida a la resección de un tumor gástrico el 26 de agosto de 1892, tras la cual desarrolló diarrea, que fue haciéndose progresivamente más severa hasta su muerte, 15 días después de la cirugía. La necropsia mostró una “membrana diftérica” en el intestino delgado (21).

En 1974 la presencia de CPM y diarrea, es asociado al uso de clindamicina, la cual era prescrita para el tratamiento de infecciones anaeróbicas, esto después de la realización de estudios endoscópicos de manera prospectiva, que incluyeron 200 pacientes que habían recibido clindamicina, 21% de ellos desarrollo diarrea y el 10% se encontró CPM (22). Este estudio desencadenó una carta de precaución por parte de la FDA ("Food and Drug Administration") a todos los médicos en Estados Unidos, lo cual genera la realización nuevas investigaciones con el objetivo de establecer la causa de la diarrea y la colitis (23).

## Microorganismo y Patogénesis

*Clostridium difficile* es una especie bacteriana del genero *Clostridium*, es un bacilo gram positivo, anaerobio y esporulado, las esporas son ovales y de localización subterminal, produciendo una deformación en la célula. En el microscopio, se observan como palillos de fósforos con el abultamiento localizado en un extremo terminal (24). El microorganismo en su forma vegetativa es altamente sensible a la presencia de oxígeno, mientras que en su forma esporulada es altamente termorresistente y capaz de sobrevivir en condiciones extremas (25).

En la microbiota intestinal, existen cerca de 400 a 500 especies bacterianas pertenecientes a 30 géneros distintos, más del 90% son anaerobias estrictas. En general, los mamíferos nacen libres de microorganismos, y la microbiota se establece de manera gradual, con el tiempo, a través de una sucesión ecológica. El *C. difficile* coloniza más de un 50% de niños durante sus primeros meses de vida, permaneciendo éstos asintomáticos, a pesar de la presencia de grandes cantidades de toxina. En adultos, el *C. difficile* disminuye, hasta casi ser indetectable (26).

En la microbiota colónica, existe tal complejidad, que los nutrientes y los sitios de adhesión son muy reducidos; por lo que prácticamente, ningún microorganismo nuevo puede establecerse. Las bacterias endógenas producen gran cantidad de sulfuro de hidrógeno y de ácidos biliares secundarios, con capacidad supresora de muchas bacterias (27). El *C. difficile* es destruido en el estómago y sólo un 1% del inóculo puede pasar al intestino delgado. Las esporas, que son ácido-resistentes, pasan a través del estómago prácticamente intactas y germinan en el intestino delgado después de la exposición primaria a ácidos biliares. Durante las primeras horas en el ciego, la viabilidad de las células vegetativas y las esporas germinadas disminuye uno o dos logaritmos (28). Por lo tanto, se puede decir que la colonización por *C. difficile* está bajo el control de la microbiota normal, y la aparición o no de enfermedad, dependerá del tamaño de la población, de la capacidad toxigénica, así como del resto de factores de virulencia de la cepa

colonizadora, de los efectos neutralizantes de toxina del resto de la microbiota y de factores relacionados con el huésped, como la edad o su grado de inmunodeficiencia (29, 30).

Aunque los principales responsables de la virulencia de *C. difficile* son las toxinas que produce, existen múltiples factores que contribuyen a la colonización e infección bacteriana, actuando directamente y/o indirectamente en la patogénesis o incluso contribuyendo al daño tisular, como: las enzimas proteolíticas e hidrolíticas, la expresión de fimbrias y flagelos, la quimiotaxis y adhesión a receptores intestinales y la producción de cápsulas. Las diferencias en la combinación de todos estos factores, son las que dan lugar a la variabilidad en la virulencia de las distintas cepas de *C. difficile* (31, 32).

## **Enzimas**

La mayoría de las cepas tienen actividad hialuronidasa, condroitín-4-sulfatasa y heparinidasa (actividad débil). También existe una débil actividad colagenasa, restringida a cepas muy virulentas. Estas actividades pueden estar implicadas en el daño intestinal, pues son enzimas degradativas de tejidos; pero además pueden ser utilizadas por la bacteria para la obtención de nutrientes (24).

## **Toxinas A y B**

Los principales factores de virulencia de *C. difficile* son dos toxinas, la toxina A (TcdA) y la toxina B (TcdB) (24). Ellas son codificadas por los genes *tcdA* y *tcdB*, respectivamente, que se encuentran dentro de una región conocida como el locus de patogenicidad o Palóc (33). Los genes de las toxinas A y B (*tcdA* y *tcdB*) se encuentran en un locus patogénico de 19,6 kDa. Cada gen tiene sus propios promotores y sitios de unión a ribosomas, aunque también pueden expresarse por un promotor común(34). La toxina A es una enterotoxina de 308 kDa, y la toxina B es una citotoxina de 269 kDa. Estas toxinas se encuentran entre las toxinas bacterianas más letales estudiadas y pueden actuar sobre más de 20 líneas celulares distintas de mamíferos(35). La mayoría de las cepas producen las dos toxinas (cepas toxigénicas) o ninguna de las dos (cepas no toxigénicas) siendo estas últimas consideradas

no patógenas, aunque últimamente se han descrito cepas en las que solo se detecta la toxina B (tox<sup>A-</sup>, tox<sup>B+</sup>) (36). Entre los genes *tcdA* y *tcdB* se encuentra otro marco de lectura abierta llamado *tcdE*. Recientemente, se ha descrito que este gen es similar estructural y funcionalmente al de las proteínas “holin” (proteínas citolíticas de bacteriófagos que causan la muerte de las células huésped para liberar los nuevos fagos), lo que sugiere que la función consiste en liberar sustancias necesarias para lisar la membrana de la bacteria para liberar toxinas al medio extracelular (37).

### **Actividad de las toxinas**

Ambas toxinas tienen efectos sobre la células; sin embargo la toxina B tiene mayor intensidad, mayor actividad monoglucosiltransferasa (glicosilación dependiente de UDP-glucosa), cataliza la incorporación de glucosa en una gran variedad de sustratos, como las proteínas de unión a GTP (Rho, Rac y Cdc42Hs), implicadas en la regulación del citoesqueleto de actina y en procesos de transducción de señales. Al lisar la actividad de estas proteínas, cambia la F-actina por G- actina, dando lugar a células redondeadas que son características de los efectos citopáticos observados (38). Las proteínas Rho también regulan las uniones celulares, produciéndose separación de las células epiteliales del intestino, lo cual genera ruptura de la barrera intestinal, aumentando la permeabilidad colónica, esto da lugar a la diarrea típica de la enfermedad (39). Las toxinas también inducen la liberación de mediadores proinflamatorios y citoquinas, así como la activación del sistema nervioso entérico, provocando la quimiotaxis de neutrófilos y la secreción de fluidos (40).

### **Estructura de las toxinas**

Existen tres dominios funcionales en ambas toxinas: el extremo N-terminal, que contiene las actividades citotóxicas y enzimáticas; extremo C- terminal, que contiene la zona de unión al receptor y está compuesto de elementos

repetitivos; y la sección media, que incluye un dominio transmembrana, que se cree que es el responsable de la translocación de la toxina al citosol (37).

### **Cepas toxA-, toxB+**

La primera cepa toxA-, toxB+ se descubrió en 1991 y se vio que causaba enfermedad en modelos animales, con una toxina B muy potente. A esta cepa se le llamó CCUG 8864 y se detectó que tenía una gran delección de 6 Kb, en el extremo 3' de secuencias repetidas del gen de la toxina A (41). Más adelante, se descubrió que estas cepas tenían un efecto citopático similar al de la toxina letal de *C. sordellii*, y distinto de las cepas toxigénicas normales de *C. difficile*, lo cual podría ser debido a una alteración de secuencia hallada en la proximidad del sitio activo de la toxina B (42). Existen varios ejemplos de brotes nosocomiales causados por cepas de este tipo, exhibiendo el rango de síntomas clásicos de la enfermedad; desde leves diarreas, hasta colitis pseudomembranosa y muerte (43).

### **Toxina binaria**

Además de las toxinas A y B, también se ha descrito una nueva toxina, con actividad ADP-ribosil transferasa específica de actina. Esta nueva toxina, a la que se ha llamado CDT o toxina binaria, tiene dos componentes **cdtA**: componente enzimático, que cataliza la ADP-ribosilación de actina monomérica e induce la desorganización del citoesqueleto y **cdtB**: componente de unión y translocación, que reconoce un receptor celular, permitiendo la internalización del componente enzimático (44). La toxina binaria es citotóxica en cultivos celulares y necesita tripsina para su activación, aunque no se sabe cómo funciona en el intestino humano (45). Las alteraciones causadas en las células incluyen el redondeamiento celular y la despolimerización de los filamentos de actina (24).

### **Epidemiología**

En la última década, la infección por *C. difficile* (ICD) ha sufrido cambios epidemiológicos, con un incremento del número de casos y de gravedad de la infección en Estados Unidos, América Latina, Canadá y Europa (46-48). Se observa una prevalencia alrededor del 1 – 3%, 1% en Europa, 2% en Estados Unidos y 3% en Asia, de todos los pacientes hospitalizados (9). En Colombia, estudios realizados en la ciudad de Cali evidencian una prevalencia de 10 por 10.000 pacientes hospitalizados (49). Para los pacientes hospitalizados en la UCI, la prevalencia de ICD puede llegar a ser del 6,4 al 11% (7, 9). En estudio realizado en 26 UCI de España, se observó que de 4258 pacientes ingresados, 190 (4,5%) desarrollaron diarrea y solo 16 pacientes (8,4%) fueron diagnosticados con ICD (50). En varios estudios la ICD se ha observado como la primera causa de diarrea de origen nosocomial, llegando a suponer hasta un 30% de los casos (51). Así mismo, es la tercera causa de infecciones hospitalarias, esto se traduce en 250.000 nuevos casos diagnosticados al año en Estados Unidos y la primera causa de muerte, superando al *S. aureus* resistente a la meticilina (SAMR) (52).

El cambio epidemiológico ha llevado a examinar la ICD en pacientes considerados previamente de bajo riesgo, como lo son: mujeres periparto, niños y personas consideradas sanas sin contacto con el sistema de salud (53). Sin embargo, parece que estos casos aún representan un bajo porcentaje 1% de la Infección Comunitaria (C-ICD) (54). Se han descrito tres posibles causas de C-ICD: la colonización del tracto gastrointestinal de pacientes que habían sido dados de alta de un hospital, de manera reciente; el incremento de la diseminación en los hospitales ha llevado a un incremento en la tasa de portadores asintomáticos en la población y el contacto con portadores asintomáticos. Inclusive algunos estudios sugieren la posibilidad de reservorio animal y de comida contaminada como causa del incremento de casos de C-ICD (55, 56). El Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) para el año 2011 reportó 453.000 casos de infección, de los cuales 293.000 fueron asociados a la atención en salud, 81.300 asociados al cuidado de la salud en la comunidad y 159.700 casos adquiridos en la comunidad (12). La incidencia global va, desde 92 por 100.000 habitantes,

hasta incidencia acumulada de  $3.6 \times 1.000$  a  $21 \times 1.000$ (57). En EEUU la incidencia de diarrea por *C. difficile* en pacientes hospitalizados se dobló de 4.5 casos por 1.000 en 2001 a 8.2 por 1.000 habitantes para el 2010 (51, 58). Se observan cambios de acuerdo al presunto origen de la infección 30 a 120 por 100.000 para las adquiridas en la comunidad y 50 a 160 por 100.000 asociados a los cuidados de la salud según datos del año 2011 (59). Respecto a la mortalidad atribuible, varía de 14.000 a 29.000 muertes cada año, según la población estudiada (60-63). Se evidencia mayor mortalidad en población mayor de 65 años (64).

La incidencia de la ICD en Europa, se recopiló en un estudio del 2002 por el Grupo Europeo de Estudio de *C. difficile* (ESGCD), en el que participaron 212 hospitales del Reino Unido, Francia, Bélgica, Dinamarca, Alemania, Italia, Holanda y España observándose una mediana de la incidencia de 11 casos por 10.000 ingresos (65). Luego se realiza un segundo estudio en el año 2005, durante dos meses, en 38 hospitales de 14 países, donde la incidencia fue de 2,45 casos por 10.000 pacientes día, aunque varió de 0,13 a 7,1 casos/10.000 pacientes día, para un total 354 aislados toxigénicos de *C. difficile*. Estos casos fueron analizados y se encontraron más de 66 ribotipos distintos, el ribotipo 027 presentó una mayor gravedad (66).

También se realizó un estudio en 482 hospitales, en 20 países europeos, durante los años 2011 a 2013; los hospitales enviaron muestras de diarrea al laboratorio de referencia y se realizaban pruebas dirigidas para *C. difficile*. Durante este periodo, los hospitales enviaron, en promedio, 65.8 muestras para incidencia de 7 casos por 10000 días cama, solo dos quintas partes de los hospitales informaron utilizar métodos óptimos para evaluar la infección por *C. difficile* (definido por las directrices europeas). Aunque el número de hospitales participantes que utilizaron métodos óptimos, aumentó durante el período de estudio, de 152 (32%) de 468 en 2011-12 a 205 (48%) de 428 en 2012-13, 148 (23%) de 641 muestras positivas para *C. difficile* la infección (según lo determinado por el laboratorio nacional) no fueron diagnosticadas por los hospitales participantes; debido a la ausencia de sospecha clínica.

Esto equivale a, aproximadamente, 74 diagnósticos perdidos por día, lo que puede decir que 40000 pacientes hospitalizados con infección por *C. difficile* son potencialmente no diagnosticados cada año en 482 hospitales europeos (67). Esto demuestra que se tiene baja utilización de los algoritmos recomendados para el diagnóstico, el 64% aproximadamente, utilizando pruebas de toxinas independientes, pudiendo influenciar las tasa de infección en cada país o institución (68).

En relación a los costos generados por la enfermedad, se estima un costo de 3.427 a 33.055 dólares por episodio de paciente infectado (62, 69). Lo cual genera un sobre costo para los servicios de salud, de 1,2 a 5,9 billones anualmente (57, 70).

### **Manifestaciones clínicas**

Las manifestaciones clínicas de esta infección van, desde portadores asintomáticos, a diarrea leve, colitis o una colitis pseudomembranosa y megacolon tóxico con riesgo vital (71).

### **Portadores Asintomáticos de *C. difficile***

La colonización por *C. difficile* es la presencia del microorganismo en una persona sin ninguna manifestación clínica, se observa que está desde el 3% hasta 15 % de los adultos y del 18% al 90% de los recién nacidos. Los pacientes colonizados, al parecer, tienen una respuesta IgG adecuada a la enterotoxina y permanecen asintomáticos habitualmente (72). La tasa es mucho mayor en los pacientes hospitalizados, que puede llegar hasta el 24%, considerándose que juegan un papel importante en la transmisión de la ICD (73). Se observó que las esporas de los portadores asintomáticos eran fácilmente transferibles a las manos de los cuidadores y médicos, lo que sugiere que la ICD se transmite, desde el entorno o las manos de los trabajadores de la salud, a otros pacientes (74, 75).



## Presentación Clínica

La diarrea es definida como la presencia de 3 evacuaciones o más de heces no formadas, en 24 horas consecutivas o menos, clasificadas de 5 a 7 por la escala de Bristol (76), como se observa en la **Tabla 1**.

**Tabla 1. La escala descriptiva y visual de Bristol**

Tipo	Forma de las heces
Tipo 1	Terrones duros separados, como tuercas (difíciles de evacuar)
Tipo 2	Parecido a una salchicha, pero aterronado
Tipo 3	Como una salchicha, pero con grietas en su superficie
Tipo 4	Como una salchicha o una serpiente, lisa y suave
Tipo 5	Bolas blandas con los bordes definidos (fáciles de evacuar)
Tipo 6	Pedazos blandos con los bordes desiguales
Tipo 7	Acuosas, ningún sólido une las piezas (enteramente líquidas)

Tomado y adaptado (77).

*C. difficile* causa una amplia variedad de cuadros clínicos que pueden ir, desde una diarrea leve, hasta una enfermedad grave y fulminante. Los síntomas pueden comenzar en poco tiempo tras la colonización, con una mediana de 2-3 días, hasta semanas más tarde (78). Los síntomas sistémicos están típicamente ausentes en las formas leves y moderadas; en la exploración física, en ocasiones, se encuentra únicamente un leve dolor a la palpación y distensión abdominal. La manifestación más frecuente es la diarrea, en las formas leves o moderadas. La diarrea es, generalmente, el único síntoma con un número de deposiciones considerablemente menor a 10 deposiciones al día, generalmente la diarrea es acuosa leve a moderada asociada a moco o sangre oculta en heces; pero la presencia de melenas o hematoquecia es rara (79). Los síntomas generales como fiebre, dolor abdominal, hipoalbuminemia y aumento de la proteína C reactiva y leucocitosis, solo sucede en aproximadamente la mitad de los pacientes (80, 81). La severidad de la presentación es clasificada según las manifestaciones clínicas observada en la Tabla 2. La colitis pseudomembranosa es una

enfermedad sistémica, en la que los pacientes presentan dolor y distensión abdominal, diarrea grave y puede llegar a ser sanguinolenta; los recuentos de leucocitos pueden ser de 20.000 células/ $\mu$ l o mayores, y la hipoalbuminemia de 3.0 o menor en los pacientes graves. La hipoalbuminemia es el resultado de una importante pérdida de proteínas (82).

**Tabla 2. Clasificaciones de severidad según las manifestaciones clínicas**

Severidad	Manifestación clínicas
Asintomático	Ninguno
Leve	Diarrea leve (3 a 5 deposiciones líquidas por día), estado afebril, leve malestar abdominal o sensibilidad, y no hay anomalías en los laboratorios.
Moderado	Diarrea sin sangre, dolor abdominal, náuseas con vómitos ocasionales, deshidratación, leucocitos > 15.000 / mm <sup>3</sup> , y BUN y/o creatinina elevados.
Severo	Diarrea con sangre, colitis pseudomembranosa, dolor abdominal intenso, vómitos, íleo , temperatura > 38,9 ° C, leucocitos > 20.000 / mm <sup>3</sup> , albúmina < 2,5 mg/dl y lesión renal aguda.
Complicaciones	Megacolon tóxico, peritonitis, SDRA e inestabilidad hemodinámica.

Tomado y adaptado (14)

La infección severa y complicada ocurre entre 3 y 10% aproximadamente de los pacientes, la diarrea es la principal manifestación, en algunos pacientes esta puede no estar presente, especialmente, cuando hay megacolon tóxico con íleo. Por el contrario, presentan cuadros de constipación, situación que muchas veces se asocia a diagnóstico tardío, con mortalidad del 38% (70). Se considera como recurrencia a la ICD, cuando esta se presenta en las primeras 8 semanas de inicio de un episodio primario, después de finalizado el tratamiento antibiótico adecuado y existiendo un periodo asintomático (82).

La presencia de las clásicas pseudomembranas son la presencia de placas amarillentas y elevadas de unos 2-10mm de diámetro, que se encuentran distribuidas sobre la mucosa colorrectal. Estas son pequeñas ulceraciones de la membrana mucosa, que desencadenan la liberación de proteínas séricas, moco y células inflamatorias, que afecta principalmente en el área rectosigmoidea y rara vez afecta el colon derecho, para observar estas lesiones es necesario la sigmoidoscopia o colonoscopia (83).

### **Colitis fulminante (íleo paralítico, megacolon tóxico, perforación colónica)**

La colitis fulminante debido a ICD se puede observar desde el 3% al 8% de los pacientes aproximadamente, siendo causante de la mayoría de las complicaciones graves, que incluyen: perforación colónica, íleo prolongado, megacolon tóxico y muerte (84). Se manifiesta típicamente como dolor abdominal severo en fosa iliaca izquierda o difuso, diarrea, distensión abdominal, fiebre, hipovolemia, acidosis láctica y leucocitosis (85). Los pacientes con megacolon tóxico presentan un colon dilatado con síntomas de toxicidad grave, como: fiebre, escalofríos, deshidratación y marcada leucocitosis (86).

La Sociedad de Epidemiología en Salud de Norteamérica (SHEA) y la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de Norteamérica (IDSA) recomiendan diferenciar, para vigilancia epidemiológica, los casos de infección por *C. difficile*, como se detalla en la Tabla 4:

**Tabla 3. Clasificación según el momento de la presentación, con relación al momento del ingreso**

<p>Infección asociada a centros de salud</p>	<p>Paciente que desarrolla diarrea 48 horas posteriores del ingreso al hospital, hasta el alta o dentro de las cuatro semanas posteriores al alta.</p>
<p>Infección comunitaria</p>	<p>ICD que ocurre en la comunidad o en las primeras 48 horas de hospitalización, sin hospitalización en un período mayor a 12 semanas.</p>

Indeterminada	Pacientes con ICD que se desarrolla en la comunidad entre 4 y 12 semanas del alta hospitalaria.
Recurrencia de la infección	La ICD que vuelve a ocurrir dentro de las 8 semanas tras el comienzo de los síntomas de un episodio previo, siempre y cuando, los síntomas del episodio previo hubieran sido resueltos tras completar la terapia antibiótica inicial.

Tomado y adaptado (3)

### **Factores de Riesgo**

Factor de riesgo es cualquier rasgo, característica o exposición de un individuo que aumente su probabilidad de sufrir una enfermedad o lesión (87). Se presume que los factores de riesgo directamente asociados son los que generan alteración de la microbiota colónica normal, aumentando la probabilidad de infección por *C. difficile* posterior a la exposición al patógeno y eventual diarrea (88).

### **Edad**

La edad avanzada, típicamente definida como aquellos pacientes mayores de 65 años (14). Esta condición se correlaciona con incremento del riesgo para desarrollar ICD e incremento de resultados adversos, complicaciones, recurrencia y muerte (89). La causa de la mayor incidencia de ICD en la población anciana es desconocida, aunque existen varias hipótesis. Una posible explicación sería la existencia de una menor resistencia a la colonización por la microbiota intestinal. La microbiota intestinal de las personas de mayor edad contiene un menor número de bacterias anaerobias y bífidobacterias, y un mayor número de enterobacterias, que las personas más jóvenes (90). Además de los cambios fisiológicos conocidos con la edad, como la disminución de la capacidad de los granulocitos de fagocitar y las alteraciones en la barrera intestinal (91). Además ellos presentan disminución de la producción de inmunoglobulina G antitoxina A, como respuesta inicial a la infección (92). En varias revisiones, se ha observado aumento de la mortalidad en relación a la edad, como se observa en la Tabla 4. A medida que aumenta el número de comorbilidades, se aumenta la probabilidad de

adquirir la colonización y/o la infección especialmente con índice de comorbilidad de Charlson (CCI). Ajustado a la edad son de 5,6 y 6,8 respectivamente (93).

**Tabla 4. Relación edad y Mortalidad en pacientes ICD**

Edad	Mortalidad
< 60 años	2.5%,
61-70 años	4.3%
71-80 años	9.4%
> 80 años	13.5%.

Tomado y adaptado de (94).

### **Hospitalización**

La hospitalización no es únicamente un reservorio, sino un vector de transmisión; ya que *C. difficile* ha sido aislado de fómites y del 30% de las superficies hospitalarias (95). Se ha observado con alta frecuencia la ICD en personas que tiene como antecedentes haber estado hospitalizados en los últimos 3 meses o vivir en sitios descuidados por personal sanitario, por ejemplo ancianatos u hospitalización en casa (2, 3). La ICD en pacientes hospitalizados se ha duplicado (96), con el consiguiente riesgo de adquirir la ICD a través de la ingesta de las esporas que pueden ser transportadas de paciente a paciente, por medio del personal asistencial o directamente de fómites y superficies (97). La estancia prolongada incrementa el riesgo de colonización y desarrollo de ICD durante la hospitalización (98). La hospitalización en la UCI ha sido considerada un factor de riesgo por sí sola, especialmente, en quienes usan antibióticos de amplio espectro (99) y está asociado como factor independiente para el desarrollo de ICD (5).

### **Antibióticos**

El factor de riesgo más conocido modificable y el más importante para el desarrollo de la ICD, es el consumo de antibióticos actual o reciente, en los 3 o 4 meses anteriores (100-102). La terapia antibiótica incrementa el riesgo de ICD; ya que suprime la microbiota normal intestinal, proporcionando de esta manera, un nicho al desarrollo de *C. difficile*. La suma de antibióticos aumenta la probabilidad de ICD, como se observa en la Tabla 5 (103); además de la

combinación de ellos y su uso mayor a 7 días (3, 49). Está asociada especialmente al uso de fluoroquinolonas, clindamicina, penicilinas, carbapenémicos y cefalosporinas de 3ra generación (99, 104). Aunque se ha observado asociación con todas las clases de antibióticos e inclusive el metronidazol (100) y algunos antivirales como valaciclovir (105). La exposición prolongada o corta de los antibióticos de una sola dosis, que se administran como profilaxis antes de una cirugía; aumentan el riesgo, tanto de colonización, como de infección sintomática (106).

**Tabla 5. Probabilidad de ICD según número de antibióticos usados**

Número de Antibióticos Recibidos	OR	IC 95%
1	10,5	2,7-40,1
2- 4	7,8	2,0-30,8
> 5	59,8	5,2-685,4

Tomado y adaptado de (103).

### Otros Factores de Riesgo

En paciente con cáncer, la quimioterapia se ha evidenciado como un factor de riesgo independiente, esto puede deberse a la actividad antimicrobiana de algunos agentes o a sus efectos inmunosupresores en sí mismos (107). La cirugía gastrointestinal o la manipulación del tracto digestivo, incluyendo la sonda nasogástrica, son considerados factores de riesgo observado en diferentes estudios (107, 108). Así es como la Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) causa el mayor riesgo de desarrollar ICD, especialmente colitis ulcerosa, independiente de la exposición a antibióticos, probablemente, relacionada con la alteración que presentan en su microbiota intestinal (100). Otros potenciales factores de riesgo son los inhibidores de la bomba de protones (IBP), antihistamínicos anti-H2, aunque existe controversia o sospecha de ser un factor de confusión, debido a la gravedad de base subyacente y la estancia hospitalaria prolongada de estos pacientes (109-112). Estos hallazgos son importantes en pacientes que utilizan estos

medicamentos por más de 2 días (113). En estudio realizado en Bogotá - Colombia, el principal factor de riesgo reportado es el uso de estos medicamentos (5).

En los pacientes con algún grado de inmunosupresión primario o secundario como VIH – SIDA o consumidores de corticoides, el *C. difficile* es la causa infecciosa más frecuentemente encontrada en estudios realizados en Estados Unidos (103). La insuficiencia renal crónica, especialmente los que requieren diálisis (50). Las enfermedades cardiovasculares (Hipertensión arterial, Enfermedad coronaria, Falla cardíaca) (114). La desnutrición, medido indirectamente por la albuminemia < 3,5 g/dl (115). Además también en la literatura se reporta otras morbilidades como la anemia, infecciones del sistema genitourinario, hipotiroidismo, neumonía e infecciones óseas con bajo poder estadístico que también tiene algún grado de asociación (116). En paciente con cáncer se ha observado asociación especialmente con tumores sólidos y leucemia (57). Se reportan resultados contradictorios en pacientes diabéticos (54, 116).

## **Diagnóstico**

### **Diagnóstico de Laboratorio (Microbiológico)**

Todas las guías internacionales (SHEA e IDSA) están de acuerdo en que el diagnóstico microbiológico de ICD solo debe realizarse en muestras de heces no formes de pacientes con diarrea (>3 deposiciones no formadas en 24 horas), en paciente sin diarrea se recomienda la obtención de muestra a través de torundas rectales cuando el envío de muestras de heces no es posible (3). Tradicionalmente, el cultivo de las biopsias de colon obtenido por colonoscopia ha sido aceptado para el diagnóstico de ICD; sin embargo, determinar la presencia de *C. difficile* toxigénico en biopsias de la mucosa colónica es invasiva y podría no ser costo efectiva, por su bajo rendimiento diagnóstico (117). No se recomienda testar las muestras de pacientes asintomáticos, así como en menores de 2 años, por el riesgo de falsos positivos (72). No se recomienda la realización pruebas repetidas, excepto en

pacientes con alta sospecha y, si se va a realizar, debe ser en las próximas 48 horas de iniciado el cuadro (118, 119). Realizar pruebas de curación en muestras de heces no son recomendadas, debido a que las esporas de *C. difficile* pueden sobrevivir en el lumen de pacientes curados durante semanas o meses, a pesar de que haya resolución clínica del episodio (3).

## **Métodos Diagnósticos de Laboratorio**

El diagnóstico clínico de *Clostridium difficile* se apoya en el diagnóstico de laboratorio. Los métodos de diagnóstico de laboratorio que se han utilizado tradicionalmente (ensayo de citotoxicidad y cultivo toxigénico) tienen prolongados tiempos de respuesta (24 a 72 horas), lo cual ha limitado su utilidad para la práctica diaria, especialmente en pacientes estado crítico (120). Por esta razón, han surgido diferentes alternativas para el diagnóstico: técnicas inmunocromatográficas basadas en flujo lateral o técnicas de enzimoimmunoanálisis basadas en una lectura final mediante espectrofotometría o quimioluminiscencia, que han sido adoptados muchos laboratorios a nivel mundial por su rapidez (120, 121). Sin embargo, se ha demostrado que estos métodos no tienen desventaja en cuanto a la sensibilidad evaluada aisladamente en comparación con el cultivo toxigénico y una especificidad alta (121, 122). A continuación, se detalla cada uno de los métodos diagnósticos de laboratorio para la diagnóstico de la ICD.

### **Ensayo de Citotoxicidad**

El ensayo de citotoxicidad es considerado, tradicionalmente, como estándar de oro para el diagnóstico de ICD; sin embargo, actualmente, este método se considera que no tiene la suficiente sensibilidad como para ser el método de referencia, según la mayoría de expertos (123). Consiste en el filtrado de las heces, que luego es trasladado a una monocapa de una línea celular apropiada (fibroblastos de prepucio humano, fibroblastos diploides humanos, células Vero, células McCoy, fibroblastos pulmonares MRC-5 y células Hep2), para luego ser incubados en un periodo de 24 a 48 horas y poder ver el efecto citopático en las células. Si se observa este efecto, se realiza un ensayo de



neutralización para asegurar que el efecto sea debido a las toxinas de *C. difficile* y no a una toxicidad inespecífica (124). El rendimiento del ensayo de citotoxicidad varía en función de numerosos factores, las toxinas pueden degradarse en la muestra, por lo que, sí hay un retraso en el transporte al laboratorio, puede dar lugar a un resultado falsamente negativo; además debido a su baja sensibilidad, el relativo tiempo prolongado de respuesta (24-48 horas), y el requerimiento de personal experto en el mantenimiento de líneas celulares e interpretación de los resultados, ha caído en desuso para el diagnóstico de ICD (3).

### **Cultivo Toxigénico**

El cultivo toxigénico de *C. difficile* se basa en el aislamiento de este microorganismo de muestras de heces y la determinación de la capacidad de producir toxina de la cepa aislada (125). Para este procedimiento, se utiliza un agar o caldo con distintos agentes selectivos que inhiben el crecimiento de otros microorganismos que se encuentran en la microbiota fecal y que incrementan la recuperación de *C. difficile* (126). Se han utilizado diferentes métodos, para aumentar el rescate; sin embargo, independientemente del medio utilizado, los cultivos se incuban durante 24-48 horas en atmósfera anaerobia (127). Una vez que se aíslan colonias sospechosas de ser *C. difficile*, se pueden identificar fácilmente por la tinción de gram, la morfología de la colonia y el olor típico a caballeriza (128). Actualmente, es considerado el método de referencia o estándar de oro y así lo sugiere la SHEA/IDSA para el diagnóstico de ICD; aunque requiere de laboratorio especializado para la realización de este método y largo tiempo para la respuesta, por esta razón, no se considera práctico para el diagnóstico de rutina (90).

### **EIAs- Detección de Toxina**

Los enzimoimmunoanálisis (EIA) para el diagnóstico de la ICD utilizan anticuerpos monoclonales o policlonales frente a las toxinas de *C. difficile*, detectando ambas toxinas (A y B). Estas son las técnicas más utilizadas por los laboratorios a nivel mundial, hasta hace algunos años (129). A pesar del

extenso uso de los EIAs, estas pruebas han demostrado tener una baja sensibilidad y especificidad en comparación con el cultivo toxigénico, llegando a sensibilidades tan bajas de hasta un 40% y, raramente, superiores al 60%, con valor predictivo positivo de tan solo el 50% (130). Por esta razón, la IDSA y la SHEA consideran estos métodos como subóptimos para el diagnóstico de la ICD y recomiendan que estas técnicas no se utilicen como única prueba diagnóstica (3).

### **EIAs- Detección de Antígeno Glutamato Deshidrogenasa**

El glutamato deshidrogenasa (GDH) es una enzima metabólica codificada por el gen *gluD*. Este antígeno es producido en niveles elevados por todos los aislamientos de *C. difficile*, incluyendo las cepas toxigénicas como las no toxigénicas; además esta enzima presenta una reacción cruzada con la de *C. sordellii*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium botulinum* proteolítico y *Peptostreptococcus anaerobius* (131, 132). Su mayor importancia ha sido su valor predictivo negativo con resultados disponibles de forma rápida y relativo bajo costo, en comparación con las pruebas moleculares. Esta prueba se recomienda por las sociedades internacionales, como una prueba de cribado o *screening* y debe ser complementada con una prueba confirmatoria como EIA de toxina o prueba molecular para la detección de toxinas (3).

### **Pruebas Moleculares**

Las pruebas de detección de productos de amplificación de ácidos nucleicos en muestras de heces, estos ensayos utilizaban métodos de PCR útiles para detectar *tcdA*, *tcdB*, los genes 16S rARN, mezcla de RNAsas y proteasas (126). Se encontró muy buena correlación con el cultivo, como se observa en la Tabla 6 (133). Sin embargo, el costo de estas técnicas es elevado, la FDA aprobó varios sistemas, como el BD GeneOhm Cdiff assay (BD Diagnostics Inc., Sparks, MD.), que detecta regiones conservadas del gen *tcdB*. Otros sistemas aprobados por la FDA son los sistemas BD MAX (Becton Dickinson), Xpert® *C. difficile* (Cepheid), prodesse® proGastro™ CD (Gen-Probe) y Illumigene® *C. difficile* (Meridian). La detección no solo del gen *tcdB*; sino también de los genes de la toxina binaria, así como la detección del nucleótido

117 del *tcdC*, son características únicas del ensayo Xpert *C. difficile* Epi assay (Cepheid Inc., Sunnyvale, CA) y el ensayo Illumigene (Meridian Bioscience, Cincinnati, OH) (127, 134).

**Tabla 6. Comparación de métodos diagnósticos para *C. difficile* con Cultivo toxígeno.**

Pruebas	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Toxina A/B	98.7	84–100	85	91.2
GDH y toxina A/B EIA	92	94–100	97.1	97.8
GDH/toxina A/B EIA y molecular	100	97–100	99.4	99.0
Molecular	100	91–100	98.5	99.3

Tomado y adaptado de (134).

### Algoritmos Diagnósticos

Dadas las limitaciones de las pruebas rápidas, se han propuesto algunos algoritmos de varios pasos, en los que se utiliza un EIA de GDH dada su elevada sensibilidad, como se observa en la Tabla 6 (135-139). La mayoría de las diarreas son negativas por lo que las guías de la IDSA y SHEA, publicadas en 2017, recomiendan realizar cribado con GDH; ya que reduce ostensiblemente el número de muestras que requieren una posterior evaluación con métodos más específicos (EIA toxinas o métodos moleculares)(3). Sin embargo, esta recomendación implica que el tiempo de respuesta del algoritmo es de 1 a 3 días, por lo que algunas sociedades recomiendan la utilización de pruebas combinadas que incluyen GDH y EIA de toxina A/B teniendo igual rendimiento que las pruebas moleculares (138). Algunas sociedades recomiendan la realización de algoritmo diagnóstico de tres pasos que incluyen las pruebas moleculares (3). Estos algoritmos multipasos, son procedimientos altamente coste-efectivos, con una especificidad muy elevada que asegura un alto valor predictivo positivo, incluso en situaciones de baja prevalencia, debido a su sensibilidad, para un óptimo diagnóstico de la ICD, con entrega de resultado más rápido que las otras opciones diagnosticas 45 min a 3 horas (121).

## **Evaluación Endoscópica**

La colonoscopia o sigmoidoscopia fue utilizada antes de la introducción de las pruebas de diagnóstico microbiológico en heces. Se prefiere la colonoscopia, ya que, hasta el 30 % de los pacientes presentan hallazgos característicos de las pseudomembranas en el colon derecho (140). Se utiliza con el fin de excluir otras patologías, confirmar el diagnóstico, evaluar la gravedad y, en ocasiones, para administrar la terapia del trasplante fecal (141).

## **Diagnóstico de Imagen**

La evaluación con radiografías abdominales y al TAC abdominal, no están indicadas de rutina, se pueden utilizar en paciente con sospecha de complicaciones como perforación intestinal, obstrucción intestinal, megacolon toxico y, en algunos casos, definir la extensión de la colitis (142).

## **Tratamiento**

No se recomienda dar tratamiento a paciente asintomáticos (3, 81). Ante la presencia de síntomas por *C. difficile* es prioritario realizar medidas para la prevención de la diseminación intrahospitalaria, como uso de habitaciones individuales y empleo de medidas generales de aislamiento de contacto (90). Utilizar agentes desinfectantes como los basados en cloruro de sodio para el aseo de la habitación, fómites y elementos de monitoreo, lavado de manos utilizando clorhexidina, que ha demostrado ser superior frente al jabón común para eliminar *C. difficile* de los trabajadores sanitarios, utilizar productos para frotarse las manos a base de alcohol, no aumentó la incidencia de ICD intrahospitalario (143).

Evaluar la presencia de factores de riesgo, si es el caso modificar, evitar la deshidratación y las alteraciones hidroelectrolíticas, si estas están presentes corregir (137). Esta estrategia permite la resolución de los síntomas hasta en 25% de los casos (144). Además se recomienda seguir las recomendaciones generales para el diagnóstico, clasificación y tratamiento de la campaña “Sobrevivir a la sepsis” (145).

## Tratamiento antibiótico

Metronidazol y vancomicina han sido los antibióticos de elección por más de 30 años. Sin embargo, una reciente revisión de la Cochrane, muestra que existen cerca de 12 antibióticos diferentes (vancomicina, metronidazol, ácido fusídico, nitazoxanida, teicoplanina, rifampina, rifaximina, bacitracina, cadazolid, LFF517, surotomicina y fidaxomicina) estudiados para el tratamiento de la ICD. Los autores revisaron 22 estudios que incluían 3.215 pacientes, donde la mayoría de las investigaciones incluyeron pacientes con ICD leve a moderados que no toleraban la vía oral, 6 estudios incluyeron pacientes ICD severa y solo un estudio comparó la vancomicina versus placebo. El resto se comparó contra compuestos activos, observándose que la vancomicina es más efectiva que el metronidazol para lograr la curación sintomática, 72% (318/444) de los pacientes con metronidazol lograron la curación sintomática en comparación con el 79% (339/428) de los pacientes con vancomicina (RR 0,90; IC del 95%: 0,84 a 0,97; evidencia de calidad moderada) (146).

Teniendo en cuenta lo anterior, se debe tener presente los pro y contra que presentan ambos tratamientos. Las razones por las que se prefiere el uso de metronidazol están basadas en el costo y en la aparición de cepas de *Enterococcus* spp. resistentes a la vancomicina (VRE) durante el tratamiento con este medicamento (147). A pesar del potencial del metronidazol de presentar niveles bajos, en estudios *in vitro* ha demostrado ser rápidamente bactericida a concentraciones del orden de 8 veces la concentración mínima inhibitoria (CMI), nivel que suele alcanzarse generalmente en el colon; mientras que la vancomicina solamente inhibe el crecimiento microbiano, con la ventaja de limitar su tratamiento a la luz del colon, alcanzando niveles de 1.000 µg/mL en heces; ya que no hay absorción desde el colon o es muy limitada (148). En varios estudios, se ha observado que en la aparición de ICD el tratamiento leve o moderado con metronidazol o vancomicina es igualmente efectivo; sin embargo, la vancomicina es superior al metronidazol en el tratamiento de pacientes con ICD grave, sugiriendo que los pacientes con enfermedad grave pueden tener una menor circulación de sangre al colon, lo

cual puede resultar en una menor trasudación del metronidazol en el lumen del colon y, por ello, una respuesta más lenta o fracaso terapéutico (149). Actualmente, las guías recomiendan distintos tratamientos según la estratificación de la gravedad de la ICD y las recurrencias como se observa en la **Tabla 7** (3).

**Tabla 7. Tratamiento de la infección por *Clostridium difficile***

Primer episodio	
Infección leve a moderada	Metronidazol 500 mg 3 veces al día VO por un período de 10 días
Infección severa	Vancomicina 125-500 mg 4 veces al día VO por 14 días o fidaxomicina 200 mg 2 veces al día VO por 10 días
Infección severa y complicada	Vancomicina 125-500 mg 4 veces al día VO, o por sonda nasointestinal, o 500 mg en 500 ml de suero fisiológico 4 veces al día vía rectal como enema de retención en caso de íleo, o distensión abdominal significativa junto con metronidazol 500 mg 3 veces al día EV por 14 días
Primera recurrencia	Mismo esquema que primer episodio, estratificando al paciente según severidad de la diarrea
Segunda recurrencia	Vancomicina 125 mg 4 veces al día VO por 14 días, seguido de 125 mg dos veces al día VO por 7 días, luego 125 mg cada 48 horas VO por 7 días, seguido de 125 mg cada 72 horas al día VO por 14 días, o vancomicina 125 mg cuatro veces al día VO por 10 días, después por pulsos de vancomicina 125 mg cada 3 días por 10 veces
Tercera o más recurrencias	Trasplante de microbiota fecal

Tomado y adaptado de (3)

Fidaxomicina es un nuevo agente antibiótico con un espectro de acción reducido, que ha sido recientemente aprobado para el tratamiento de la ICD (150). Es macrocíclico con actividad bactericida dirigida frente a *C. difficile* y mínima actividad frente a otros constituyentes de la microbiota intestinal,

incluyendo *Bacteroides* spp. Esta propiedad puede permitir una rápida restauración de la microflora comensal del colon de los pacientes con ICD y puede reducir el riesgo de posterior colonización y sobrecrecimiento de *C. difficile* con actividad postantibiótica (151, 152). Ha demostrado no ser inferior a vancomicina en la respuesta inicial; además los pacientes tratados inicialmente con fidaxomicina eran menos propensos a tener recurrencias dentro de las cuatro semanas tras el tratamiento, lo que se tradujo en una superior respuesta sostenida a vancomicina (153). Por lo anterior, se recomienda utilizar en pacientes con ICD severa (3).

Se han evaluado otros antibióticos como ácido fusídico, nitazoxanida, teicoplanina, rifampina, rifaximina, bacitracina, cadazolida, LFF517, y surotomicina, con resultados contradictorios. Estudios pequeños que avalan su uso, no han sido aprobados todos para su empleo en ICD. En la revisión de la Cochrane se reporta a la teicoplanina que puede ser más efectiva que la vancomicina para lograr una cura sintomática en el 87% (48/55) de los pacientes con teicoplanina versus el 73% (40/55) de los pacientes con vancomicina (RR 1.21, IC 95% 1.00 a 1.46, evidencia de muy baja calidad) (146). Recientemente, se han estado realizando estudios de paciente que recibieron tratamiento con tigeciclina intravenosa solo, observándose resultados similares a la vancomicina ICD grave (154). Se considera su uso como tratamiento coadyuvante para los pacientes que no habían respondido al metronidazol y vancomicina, en un caso se utilizó como tratamiento inicial (155, 156). Otros medicamentos como la rifaximina y la nitazoxanida, tienen evidencia limitada sobre la eficacia para la erradicación de la infección por *Clostridium difficile*, con una no inferioridad en comparación con metronidazol y vancomicina en estadios leves de la enfermedad (157).

### **Tratamientos Alternativos**

Se han estudiado varios tratamientos no antibióticos, como las resinas de intercambio aniónico colestiramina y colestipol. En un principio, se pensó que podían ser beneficiosas en el tratamiento de la ICD; sin embargo, un ensayo clínico de colestipol, no demostró ninguna ventaja respecto al placebo (158).

También se ha intentado esta aproximación con anticuerpos de las toxinas A y B generados tras vacunación de animales; a través de leche, huevos y administración por vía oral de los anticuerpos derivados bovinos de inmunoglobulina G. Se ha observado que se degradan por las condiciones ácidas y el tránsito por el tracto gastrointestinal humano; sin embargo, se ha detectado actividad neutralizante de toxina en las heces y el fluido ileal humano. Se han realizado varios estudios con administración oral e intravenosa con resultados contradictorios; sin embargo, se ha observado utilidad en pacientes con infección recurrente (159, 160). En los últimos años, se vienen utilizando agentes bioterapéuticos con el objetivo de restaurar la microbiota que puede estar alterada en pacientes que reciben antibióticos, los probióticos como *Saccharomyces boulardii* ha demostrado beneficio, aunque limitado, para la disminución de recaídas y recurrencias *Lactobacillus rhamnosus* no demostró beneficios (161, 162). Por el contrario, el trasplante fecal (inserción de una solución proveniente de la materia fecal de un donante en el tracto digestivo del paciente) ha demostrado ser altamente efectivo en el tratamiento de R-ICD; ya sea, administrado por colonoscopia, sonda nasogástrica o en forma de enemas (163, 164). Este procedimiento está recomendado con grado de evidencia A-1 por la Sociedad Europea de Microbiología y Enfermedades Infecciosas para el tratamiento de las recurrencias múltiples de la ICD (137).



## 5. METODOLOGÍA

### Tipo de estudio

Se realizó un estudio descriptivo prospectivo, de tipo transversal. Fue realizado con el fin de conocer la prevalencia, la morbilidad y la mortalidad asociada a infección por *Clostridium difficile*; así como los factores relacionados, en personas de 18 o más años que fueron admitidos al servicio de cuidados intensivos e intermedios del Hospital Universitario San Jorge y la Clínica los Rosales, en el periodo comprendido entre el 1 de enero y 30 de junio de 2018.

### Población Objeto

La población de estudio comprendió las personas, hombres y mujeres, mayores de 18 años de edad atendidos en los servicios de cuidados intensivos adulto del Hospital Universitario San Jorge y la Clínica Los Rosales, de la ciudad de Pereira durante 1 de enero y 30 de junio 2018. La unidad de análisis son los individuos con diarrea y de quienes se tengan diagnóstico confirmado de ICD durante la estancia en UCI.

### Tamaño de muestra y muestreo

**Universo:** Pacientes hospitalizados en las unidades de cuidados intensivos objeto de estudio en la ciudad de Pereira – Colombia con diarrea y en quienes se haya realizado prueba de GDH + Toxina A/B o prueba molecular para *Clostridium difficile*.

**Muestra:** La muestra se calculó con la herramienta online OpenEpi versión 3, con una probabilidad de error alfa de 0,05 (nivel de confianza del 95%), teniendo en cuenta que la prevalencia de infección por *Clostridium difficile* en los pacientes con diarrea hospitalizados en la unidad de cuidado intensivos en los estudios internacionales que corresponde al 6%. Adicionalmente, teniendo como base para el cálculo del tamaño de muestra un universo (N) de 4431

personas, que estuvieron hospitalizados durante el año 2015 en las unidades de cuidados intensivos e intermedios y bajo la siguiente ecuación:

$$= \left[ \frac{1}{n} \cdot (1 - p) \right] / \left[ \left( \frac{z^2}{n} \cdot \frac{1}{1 - \alpha/2} \cdot (1 - p) + \frac{1}{n} \cdot (1 - p) \right) \right]$$

Se establece un tamaño muestral de 86 personas con diarrea, como mínimo, para encontrar una prevalencia de ICD similar a la de los estudios internacionales.

## **Criterios de Selección**

### **Criterios de Inclusión:**

- Pacientes con edad mayor o igual a 18 años.
- Pacientes hospitalizados en la unidad de cuidados intensivos e intermedios de las instituciones participantes.
- Pacientes con diarrea, como se definió anteriormente.
- Familia y/o paciente que acepte participar en la investigación con la firma del consentimiento informado por paciente o acompañante (Anexo 3).
- Que se le realice la prueba GDH, Toxina A y B, o/y prueba molecular (panel Filmarray GI®).

### **Criterios de Exclusión:**

- Pacientes que sean remitidos a otras instituciones durante su hospitalización en la unidad de cuidados intensivos.
- Paciente que proceda de otro servicio de la institución o de otra institución con diagnóstico de infección por *Clostridium difficile* y/o esté recibiendo tratamiento previo al ingreso a la unidad de cuidados intensivos.

## **Definición y operacionalización de las variables**

La ICD corresponde a la variable dependiente dentro del estudio. Dentro de la valoración de la historia clínica, se considerarán paciente con ICD, aquellos

que presenten diarrea y cumplan con cualquiera de los siguientes patrones GDH positiva y Toxina A positiva y Toxina B es negativa o positiva, o GDH positiva y Toxina B positiva y Toxina A negativa y hayan sido hospitalizados en la unidad de cuidados intensivos o intermedios, durante el periodo estudiado del año 2018. Para cada caso, se realizó el registro de datos en el que se incluyeron fechas de ingreso y alta en el hospital y en la UCI, diagnóstico de ingreso, nivel de gravedad valorado por la escala APACHE II y SOFA durante las primeras 24 horas de ingreso a UCI y necesidad de cirugía urgente durante el ingreso.

Los pacientes fueron clasificados, de acuerdo con el diagnóstico de ingreso, en coronarios, quirúrgicos, traumáticos y médicos. Los casos coronarios son aquellos cuyo motivo de ingreso fue un síndrome coronario agudo o crónico con o sin elevación del segmento ST. Los pacientes traumáticos incluyen aquellos cuyo motivo de ingreso sean lesiones agudas producidas por traumatismos, mientras los pacientes quirúrgicos fueron aquellos cuyo motivo de ingreso fue el control posoperatorio de una intervención programada o no programada. Los pacientes médicos fueron aquellos cuyo motivo de ingreso no era ninguno de los anteriores.

Se registraron los antecedentes patológicos, las comorbilidades, los dispositivos invasivos, las técnicas y los tratamientos utilizados el día del aislamiento de *C. difficile*, los antibióticos utilizados previamente y la duración de los mismos. Se consideraron como antecedentes patológicos la presencia en la historia clínica de Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) diagnosticada clínicamente o por espirometría y la insuficiencia renal crónica definida como tasa de filtración glomerular (TFG)  $< 60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$  o hemodiálisis o diálisis peritoneal. Se definió paciente obeso, si tenía un índice de masa corporal (IMC)  $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ . Hipertensión arterial si hay constancia en su historia clínica, consume medicación antihipertensiva o presenta cifras medias de presión arterial  $\geq 140/90 \text{ mmHg}$  en la exploración física. El paciente diabético es aquel con dicho diagnóstico en su historia clínica, que haya recibido medicación antidiabética o tenga una glucemia en ayunas  $\geq 126$

mg/dl, glucemia en cualquier momento  $\geq 200$  mg/dl o hemoglobina glicada  $\geq 6,5\%$ . Fumador se considera a quien hubiese consumido al menos un cigarrillo en el último mes. La dislipidemia la presencia de colesterol total  $\geq 200$  mg/dl, colesterol de baja densidad (LDL)  $\geq 190$  mg/dl o triglicéridos  $\geq 150$  mg/dl o tratamiento actual con fármacos hipolipidemiantes. Neutropenia cuando la presencia de neutrófilos es  $< 500/\text{mm}^3$ , e inmunodepresión cuando el paciente ha sido diagnosticado de infección por VIH u otra inmunodeficiencia congénita o adquirida. Se registró el antecedente de neoplasia diagnosticada previamente al ingreso o durante la estancia en UCI, el antecedente de tratamiento con radioterapia o quimioterapia en los últimos 3 meses; además del antecedente de trasplante de médula ósea o de órgano sólido.

La procedencia del paciente se clasificó según origen, como: domicilio, los que ingresan directamente de la casa o están en el servicio de urgencia por un periodo no mayor a 24 horas; hospitalización, a los pacientes que proceden de cualquier área de hospitalización o de urgencias mayor de 24 horas. Otro centro asistencial, a los pacientes que procedan del servicio de hospitalización de otra institución con una estancia mayor a 24 horas. El origen de la ICD se ha clasificado como: comunitario, cuando el paciente presente diarreas líquidas e identificación positiva de *C. difficile* en el momento del ingreso o en las primeras 48 h de ingreso en el hospital; nosocomial extra-UCI, cuando la clínica y el diagnóstico de ICD se realizó a partir de las 48 h de ingreso en el hospital y en las primeras 48 h de ingreso en UCI y nosocomial intra-UCI, cuando el diagnóstico se realizó a partir de las 48 h de estancia en UCI o en las primeras 72 h posteriores a su alta de dicho servicio.

Se registró si era usuario de nutrición enteral o parenteral en el momento del diagnóstico, tipo de nutrición, osmolaridad y tiempo de utilización previo al diagnóstico. Así mismo, el antecedente de utilización de antibióticos en los últimos 3 meses previo a la hospitalización en la UCI, los cuales fueron clasificados de acuerdo a la familia farmacológica perteneciente. Además, se registraron los medicamentos usados crónicamente por el paciente. Los tratamientos utilizados y soportes recibidos durante el diagnóstico. Se

documentó la respuesta inflamatoria, según la clasificación de acuerdo sepsis o choque séptico no atribuible a otra causa infecciosa. Los pacientes fueron seguidos hasta el alta hospitalaria para identificar reingresos o reinfecciones. La mortalidad global se definió como aquella que ocurre durante la estancia en la UCI o en el hospital por cualquier motivo.

La fuente de datos fueron las historias clínicas electrónicas de pacientes atendidos en la UCI del Hospital Universitario San Jorge y Clínica Los Rosales, durante el periodo objeto de estudio. Se revisaron los registros clínicos diariamente y se ingresaron los pacientes que cumplían los criterios de inclusión y exclusión.

Se realizó la prueba Gx8 72001 V *C. difficile* GDH + Toxina A +Toxina B, la cual es un inmunoensayo cualitativo para la detección simultánea del glutamato deshidrogenasa (GDH) de *Clostridium difficile*, la toxina A y toxina B en muestras fecales humanas y/o prueba molecular practicada por las bacteriólogas de cada institución, con una capacitación previa por parte de los investigadores. En la región de prueba, la membrana del test A está prerrecubierta con anticuerpos monoclonales contra el antígeno (GDH) de *C. difficile*, la membrana del test B está pre-recubierta con anticuerpos monoclonales contra los antígenos de la toxina A de *C. difficile* y la membrana del test C está pre-recubierta con anticuerpos monoclonales contra el antígeno de la toxina B de *C. difficile*. Durante la prueba, la muestra reacciona con las partículas coloreadas rojas recubiertas con anticuerpos anti-GDH en el test A y / o con anticuerpos anti-toxina A en el test B y / o con anticuerpos anti-toxina B en el test C, que han sido pre-secados en las tiras de prueba. La mezcla se desplaza hacia arriba en la membrana por acción capilar. En el caso de un resultado positivo en el test A, los anticuerpos específicos presentes en la membrana van a reaccionar con el conjugado de la mezcla y generar una línea de color rojo. En el caso de un resultado positivo en el test B, los anticuerpos específicos presentes en la membrana van a reaccionar con el conjugado de la mezcla y generar una línea de color rojo. En el caso de un resultado positivo en el test C, los anticuerpos específicos presentes en la

membrana van a reaccionar con el conjugado de la mezcla y generar una línea de color rojo. La mezcla continúa moviéndose a través de la membrana a los lugares de anticuerpo inmovilizado en la región de la banda de control. Una banda de color verde aparece siempre en las líneas de control y sirve como verificación de que se ha añadido el volumen suficiente de muestra, que el flujo es adecuado y sirve como control interno de los reactivos.

Se recolectó la información de mortalidad y supervivencia de los pacientes al episodio de ICD en cuestión, evaluándose los siguientes desenlaces: resolución de la diarrea y de las manifestaciones clínicas o la muerte del paciente. Se utilizó un formato de recolección de datos individuales para cada paciente, diseñado para el estudio, donde se evaluarán las variables seleccionadas en el estudio y se consignó en el formato previa autorización del departamento de estadística y del comité de ética de la Universidad Tecnológica de Pereira y del Hospital Universitario San Jorge, de la misma ciudad.

### **Recolección y procesamiento**

Los datos fueron ingresados y almacenados en una base de datos en Microsoft Excel, para lo cual se desarrolló un sistema de codificación para las variables cualitativas. Cada una de las categorías se codificó mediante numeración. Los códigos quedaron definidos e introducidos en el formulario de registro desarrollado en el paquete estadístico SPSS, como están descritas en la tabla de variables.

### **Control de sesgos**

**Sesgo de información:** Todos los datos fueron recolectados por estudiantes de medicina, médicos generales y residentes de medicina crítica y cuidado intensivo con entrenamiento en la recolección, para esto se utilizó un único formato de información.

**Sesgo de medición:** Las variables nominales, fueron categorizadas previamente al inicio de la recolección, con una definición previa conocida, la cual va seguida durante el ingreso de las mismas a la base de datos.

**Sesgo de muestreo:** Para la recolección de la muestra, se tomó sistemáticamente la información de todas las variables para cada uno de los sujetos en estudio en estricto orden de aparición en la base de datos.

**Sesgo de análisis:** Previo al procesamiento de la información, se verificó dos veces la no existencia de datos duplicados, así como la correcta codificación de las variables con base en una plantilla inicial corroborada con la historia clínica de cada sujeto de estudio.

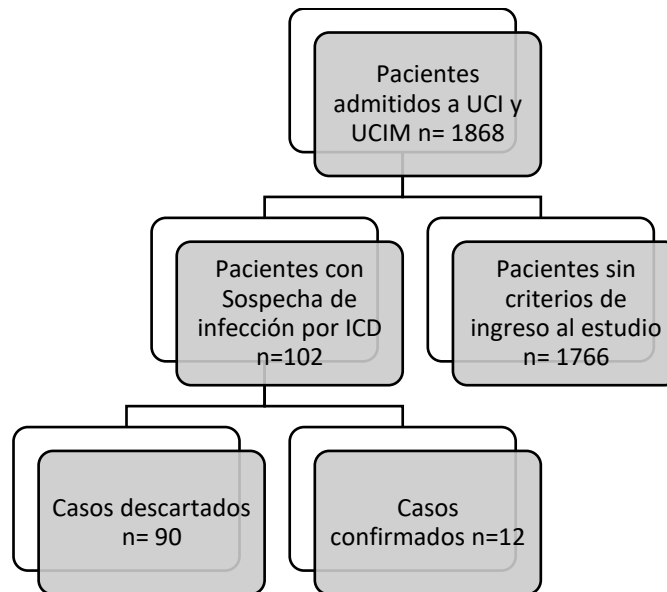
**Sesgo de interpretación:** Se diseñó con anterioridad un plan de análisis estadístico, en el que se establecieron los procedimientos a seguir de acuerdo al objetivo general y a los específicos.

### **Plan de análisis**

Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS Statistics versión 24.0 para Windows (IBM, EE.UU). Se realizó un análisis descriptivo con frecuencias y proporciones para las variables cualitativas, medidas de tendencia central y de dispersión para las variables cuantitativas. Se compararon las variables categóricas mediante la prueba  $X^2$ . Se realizaron modelos de regresión logística binaria usando como variable dependiente la infección por *Clostridium difficile*, y como covariables las que se asociaron significativamente a estas en los análisis bivariados. Se determinó como nivel de significación estadística una  $p < 0,05$ .

## 6. RESULTADOS

Durante un periodo de estudio de 6 meses, se encontró que 1.868 pacientes fueron admitidos a las UCI y UCIM del Hospital Universitario San Jorge y de la Clínica Los Rosales de Pereira. De estos, se halló que, durante la estancia hospitalaria, 102 pacientes presentaron más de 3 episodios de diarrea al día por lo que se clasificaron como casos sospechosos de infección por *C difficile* Figura 1



**Figura 1. Diagrama de pacientes atendidos en las 2 entidades**

La mediana de la edad de estos pacientes fue de 64 años y el 51% correspondió a mujeres. El score de APACHE II la mediana de 17 (rango: 5 - 33) y una importante carga de comorbilidades fue registrada. En las Tabla 8 y Tabla 9 se describen las características sociodemográficas y clínicas de los pacientes con sospecha de la infección y aquellos con diagnóstico confirmado.

**Tabla 8. Caracterización sociodemográfica de los pacientes con diarrea atendidos en 2 centros de referencia, Pereira - Colombia**

Variables	Población general		Con <i>C. difficile</i>		Sin <i>C. difficile</i>	
	n=102	%	n=12	%	n=90	%
Edad (Me) (años) Rango	64 (18-92)		67 (29-77)		62,5 (18-80)	
Hombre/Mujer	50/52	49/51	9/3	75/25	41/49	45,6/54,4



Procedencia							
	Municipios de Risaralda	84	82,3	9	75	75	83,3
	Otros municipios	18	17,6	3	25	15	16,7
Institución de atención							
	Hospital Universitario San Jorge	60	58,8	7	58,3	53	58,9
	Clínica Los Rosales	42	41,2	5	41,7	37	41,1
Servicio de atención							
	UCI	58	56,9	7	58,3	51	56,7
	UCIM	44	43,1	5	41,7	39	43,3
Diagnóstico de ingreso							
	Médico	57	55,9	5	41,7	52	57,8
	Quirúrgico	23	22,5	4	33,3	19	21,1
	Traumático	11	10,8	3	25	8	8,9
	Coronario	11	10,8	0	0	11	12,2

**Tabla 9. Características clínicas de los pacientes con diarrea atendidos en 2 centros de referencia, Pereira - Colombia**

Variables	Población general		Con <i>C. difficile</i>		Sin <i>C. difficile</i>	
	n=102	%	n=12	%	n=90	%
Manifestaciones clínicas						
Dolor abdominal	67	65,7	11	91,7	56	62,2
Disnea	18	17,6	7	58,2	11	12,2
Nauseas	48	47,1	5	41,7	42	46,7
Diarrea disentérica	16	15,7	4	33,3	12	13,3
Fiebre	32	31,4	4	33,3	28	31,1
Emesis	23	22,5	3	25	20	22,2
Complicaciones						
Alteración electrolítica	54	52,9	4	33,3	50	55,6
Colitis pseudomembranosa	3	2,9	3	25	0	0

Ninguna	45	44,1	5	41,7	40	44,4
---------	----	------	---	------	----	------

De 102 pacientes con diarrea que ingresaron a las UCI y UCIM del Hospital Universitario San Jorge y de la Clínica Los Rosales de Pereira, el 11,76% (n=12) presentaron infección por *Clostridium difficile* entre el 1ero de enero y 30 de junio de 2018. La edad media fue de  $61 \pm 16,2$  años con una mediana de 67 años (rango: 29-77 años) y el 75% (n=9) de los pacientes correspondió a hombres, a diferencia de los pacientes que no presentaron ICD en donde predominaron las mujeres (54,4%). La relación mujer - hombre en los casos fue de 1:3. En la Tabla 8, se muestran las variables sociodemográficas de los pacientes con diarrea.

El APACHE II al ingreso de los pacientes con ICD la mediana fue de 19 puntos (rango: 14 - 24), mientras que el SOFA la media fue  $5,5 \pm 4,1$  puntos (rango: 4 -13) contrastando con ligeras diferencias en el APACHE II la mediana 16,5 puntos (rango: 5 - 33) y SOFA la media fue  $6 \pm 3,6$  de los pacientes sin ICD. La estancia hospitalaria, antes del primer episodio de diarrea, fue de  $6,50 \pm 5,8$  días (rango 0-20), con un promedio de  $4,91 \pm 1,5$  deposiciones (rango 2-8) en 24 horas previo a la toma del estudio diagnóstico, con un tiempo de evolución al momento de la toma de la muestra de  $3,36 \pm 2$  días (rango 1-16). El diagnóstico se realizó, principalmente, por medio de la prueba glutamato deshidrogenasa en el 83,3% de los casos.

La duración de la diarrea fue de  $6,92 \pm 5,1$  días (rango 2-19) siendo disintérica en 33,3% de los pacientes con ICD y asociándose principalmente a dolor abdominal en el 91,7% de los casos. Todos los pacientes tenían dispositivos invasivos, principalmente sonda urinaria (100%) y catéter venoso central (91,7%); mientras que los pacientes sin ICD presentaron éstos aditamentos en una menor proporción. Las variables clínicas de los pacientes incluidos en el estudio se representan en la Tabla 9.

Los factores de riesgo identificados en los pacientes con ICD fueron, principalmente, la prescripción de inhibidores de la bomba de protones (100%)

y el uso previo de antibióticos en los últimos 3 meses. En la Tabla 10 se describen todos los factores de riesgo identificados en el estudio. Con relación al uso de antibióticos, se encontró un promedio de uso de  $2,17 \pm 1,03$  medicamentos (rango 1-4), documentándose la piperacilina tazobactam, las cefalosporinas y los carbapenémicos, como los antimicrobianos más prescritos (ver

Tabla 11). La mayoría de pacientes presentaron una infección leve (58,3%) y las principales complicaciones fueron alteraciones electrolíticas (33,3%) y colitis pseudomembranosa (25%). El tratamiento se realizó mediante metronidazol (75%) y vancomicina oral (8,3%), se presentó una muerte relacionada con la infección por *Clostridium difficile*.

**Tabla 10. Factores de riesgo identificados en los pacientes con diarrea atendidos en 2 centros de referencia, Pereira - Colombia**

Factores de riesgo	Con <i>C. difficile</i>		Sin <i>C. difficile</i>	
	n=12	%	n=90	%
IBP	12	100	82	91,1
Uso de antibióticos en los últimos 3 meses	11	91,7	64	71,1
Opioides IV	7	58,3	54	60
Cirugía urgente	7	58,3	22	24,4
Edad >64 años	6	50	41	45,6
Nutrición enteral	6	50	50	55,6
Uso reciente de esteroides	6	50	24	26,7
Ventilación mecánica	5	41,7	35	38,9
VIH	3	25	2	2,2
Nutrición parenteral	2	16,7	4	4,4

**Tabla 11. Antibióticos utilizados previamente en los pacientes con diarrea atendidos en 2 centros de referencia, Pereira - Colombia**

Antibióticos	Con <i>C. difficile</i>		Sin <i>C. difficile</i>	
	n=12	%	n=90	%
Piperacilina tazobactam	5	41,7	32	35,6
Cefalosporinas	5	41,7	15	16,7

Carbapenémicos	5	41,7	29	32,2
Vancomicina	4	33,3	28	31,1
Penicilina	3	25	5	5,6
Metronidazol	2	16,7	4	4,4
Clindamicina	1	8,3	4	4,4
Nitrofurantoina	1	8,3	13	14,4
Fluoroquinolonas	0	0	5	5,6

### Análisis bivariado

En la tabla 12, se muestran los paraclínicos básicos realizados en los pacientes que presentaron diarrea. Se efectuó la t de student y Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) según correspondía por las pruebas de normalidad Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk, comparándose medias o medianas de acuerdo a lo correspondiente, sin incluirse diferencias estadísticamente significativas.

**Tabla 12. Estudios paraclínicos de los pacientes con diarrea atendidos en 2 centros de referencia, Pereira - Colombia**

Laboratorio	<i>Con C. difficile</i>		<i>Sin C. difficile</i>		t de student		Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test	
		DE		DE	T	Pr(T > t)	z	Prob> z
Hb ( $\bar{x}$ )	9,5	2,6	10,7	2,2	1.479	0.071		
Hto ( $\bar{x}$ )	29,2	7,6	31,8	7,1	1.1115	0.1345		
Leucocitos ( $M_e$ )	8,3	4,6	8,9	7,6			0.406	0.6844
Creatinina ( $M_e$ )	0,7	0,55	0,7	3,2			1.501	0.1333

BUN (M <sub>e</sub> )	20	26,9	20	23,5			0.380	0.704
Na+ (M <sub>e</sub> )	141	5,2	140	6,6			- 0.305	0.760
K+ (M <sub>e</sub> )	3,7	0,6	3,7	0,6	0.6772	0.250		
Cl- (M <sub>e</sub> )	105	4,8	102	13,5			- 0.521	0.6026
pH (M <sub>e</sub> )	7,38	0,13	7,4	0,09			0.343	0.7315
PCO2 (M <sub>e</sub> )	33	9,2	36	9,2			0.350	0.7264
PO2 (M <sub>e</sub> )	79	16,9	74,5	28,1			-0.59	0.5538
HCO3 (M <sub>e</sub> )	21,5	5,7	23	5,9			0.036	0.9714
BE (M <sub>e</sub> )	-1,5	6,8	-0,8	7			0.067	0.9468
Lactato (M <sub>e</sub> )	1,4	0,5	1,5	1,3			1.410	0.1586

Tras realizar el análisis bivariado, se encontró que el antecedente de la infección por *Clostridium difficile* es 14 veces más frecuentes en pacientes con antecedente de infección por VIH, con una diferencia estadística significativa (OR: 14,6; IC95%: 2,1-99,6; p=0,001). Otros factores relacionados a mayor frecuencia del evento incluyen necesidad de cirugía urgente al ingreso (OR: 4,3; IC95%: 1,2-15,0; p=0,015), uso previo de penicilina (OR: 5,6; IC95%: 1,1-27,7; p=0,019) y de cefalosporinas (OR: 3,5; IC95%:0,998-12,775; p=0,040) (ver Tabla 13).

**Tabla 13. Análisis bivariado de los pacientes con infección por *Clostridium difficile*, atendidos en 2 centros de referencia, Pereira - Colombia**

Variable		Caso	OR	IC		P
				Inferior	Superior	
<b>Dispositivos Invasivos</b>	Sonda naso/ orogástrica	67%	1,333	0,374	4,758	0,657
	Catéter venoso central	92%	2,026	0,242	16,966	0,507
	Ventilación mecánica	75%	2,400	0,609	9,456	0,200
<b>Comorbilidades</b>	Hipertensión arterial	33%	0,382	0,107	1,362	0,128
	Diabetes mellitus	25%	0,634	0,160	2,514	0,514
	Dislipidemia	17%	0,363	0,075	1,757	0,192
	Insuficiencia renal	8%	0,173	0,021	1,403	0,067

	Insuficiencia cardiaca	8%	0,250	0,031	2,041	0,165
	Inmunosupresión y VIH	25%	4,467	0,993	21,922	0,035
	Neoplasia órgano sólido	8%	1,955	0,200	19,098	0,558
	EPOC	33%	1,545	0,424	5,631	0,507
	Desnutrición	17%	1,300	0,253	6,670	0,753
<b>Factores de riesgo</b>	Edad >64 años	50%	1,195	0,358	3,989	0,772
	VIH	25%	14,667	2,158	99,658	<b>0,001</b>
	Ventilación mecánica 48h antes	42%	1,122	0,330	3,815	0,853
	IBP	100%	0,911	0,854	0,972	0,282
	Opioides intravenosos	58%	0,933	0,275	3,170	0,912
	Nutrición enteral	50%	0,800	0,240	2,671	0,716
	Nutrición parenteral	17%	4,300	0,697	26,521	0,091
	Necesidad urgente de cirugía	58%	4,327	1,247	15,017	<b>0,015</b>
	Uso previo de antibióticos	92%	4,469	0,549	36,392	0,129
<b>Uso previo de antibióticos</b>	Penicilina	25%	5,667	1,158	27,724	<b>0,019</b>
	Piperazilina tazobactam	42%	1,295	0,380	4,412	0,679
	Cefalosporinas	42%	3,571	0,998	12,775	<b>0,040</b>
	Carbapenémicos	42%	1,502	0,439	5,139	0,514
	Metronidazol	17%	4,300	0,697	26,521	0,091
	Clindamicina	8%	1,955	0,200	19,098	0,558
	Vancomicina	33%	1,107	0,308	3,984	0,876

## Modelo de regresión

Para el diseño del estudio, se escogió el modelo de regresión de Poisson, se seleccionaron las variables cualitativas y cuantitativas según los resultados del análisis bivariado, las que tuvieron significancia estadística y/o presentaron p menor de 0,2. De las variables plausibles, desde el punto de vista clínico, se fueron excluyendo una a una aquellas con menor significancia estadística para ajustar el modelo. Se obtuvo que el factor asociado a mayor ICD, después de realizar la regresión, fue tener diagnóstico de VIH (IRR=6,46; IC 95%: 1,75-23,88). (Ver Tabla 14)

**Tabla 14. Modelo de regresión de Poisson de los pacientes con infección por Clostridium difficile, atendidos en 2 centros de referencia, Colombia**

Number of obs = 102 LR chi2(1) = 5.50 Prob > chi2 = 0.0190 Log likelihood = -34.929854 Pseudo R2 = 0.0730					
Caso positivo	IRR	Std Err	Z	P> z	[95% IC]
VIH 0 No 1 Si	6.466671	4.311113	2.80	0.005	1.750706 23.88627
Cons	.0927835	.0309278	-7.13	0.000	.0482766 .1783219

## 7. DISCUSIÓN

El presente trabajo evaluó las características de los pacientes con infección por *C. difficile* en dos unidades de cuidados intensivos (UCI) y en dos unidades de cuidados intermedios médicos (UCIM) de la ciudad de Pereira. Se encontró una baja frecuencia de infección por este agente (11,76%) en los pacientes admitidos en estas unidades y que presentaron diarrea. Los datos, a pesar del periodo de seguimiento, son similares a lo encontrado y descrito en el estudio de Gualtero *et al*, en la ciudad de Bogotá (13,8%) y superior a lo reportado por Oñate-Gutiérrez en un servicio de hospitalización de Cali (8,9%) (49, 165).

La infección por *C. difficile* afecta desproporcionadamente a pacientes de mayor edad, con diferencias importantes observadas en los  $\geq 65$  años, como lo demuestra la tasa de infecciones ajustada por edad, siendo varias veces mayor en esta población de pacientes (166). En el presente estudio, se encontró que, los pacientes en quienes se documentó la infección, tuvieron una edad promedio de 61 años (rango: 29-77 años), lo cual es inferior a otro reporte en el país realizado por Gualtero *et al* (65 años) y lo registrado España por Bouza *et al* (65 años) (165, 167); pero similar a lo encontrado por Khanafer *et al* en Francia (2007-2011), en un estudio que incluyó 40 pacientes admitidos a UCI, cuya edad promedio fue de 62,9 años (168). Así mismo, en lo descrito por Álvarez-Lerma y Salva, en España (63,4 y 61,0 años, respectivamente), en Colombia, por los grupos de Marín *et al* y Oñate-Gutiérrez *et al* (58 años) y en Sudáfrica (43,5 años) (169-173). En Taiwán, Lee *et al*, encontraron un promedio de edad de 75 años; mientras en Alemania, fue de 74 años, y en Japón, de 78 años (174-176). La diferencia de edad entre las diferentes series de pacientes puede ser explicada por la epidemiología propia de cada sitio de atención y factores asociados, como el uso de antibióticos, entre otros.

La distribución según sexo y de acuerdo a varios estudios, ha mostrado un predominio de infección en hombres. En el presente estudio, el 75% de



pacientes correspondió al sexo masculino, superior a lo reportado en Francia (67,5%), España (66,2% y 54%), Inglaterra (60,0%) (167, 168, 170, 177) y opuesto a lo reportado por otros autores en Colombia (48,2%, 41,4% y 39,0%) (165, 169, 173). En Alemania, la mayoría de pacientes correspondió a mujeres (59,8%) (174).

El cuadro clínico de la infección por *C. difficile* varían en un rango, desde colonización asintomática, enfermedad leve, hasta enfermedad amenazante de la vida (3, 11, 178, 179). Algunas manifestaciones asociadas a la enfermedad incluyen: diarrea, dolor abdominal, fiebre y náuseas, entre otras (3, 11, 178, 179). En el grupo de pacientes estudiados, todos presentaron diarrea como condición *sine qua non* para considerar el diagnóstico y definir caso (3). Entre otros síntomas evaluados, se encontró que el más frecuente fue dolor abdominal, seguido por náuseas (41,6%); mientras la fiebre y disentería se presentó en un tercio de pacientes. El estudio conducido en Francia por Khanafer *et al*, en un total de 40 pacientes con diagnóstico confirmado de la enfermedad, reveló que la fiebre fue el síntomas más frecuente (57,5%, n=23) y el dolor abdominal se presentó en 37,5% de ellos (n=15) (168). En Bogotá, Gualtero *et al*, describieron que en 36 pacientes, con diagnóstico confirmado, el dolor abdominal se presentó en el 41,6% de pacientes; mientras el malestar general en 22,2% y las náuseas en 13,8% (165). En el reporte por Oñate-Gutiérrez, no se encontró diferencia entre casos y controles, al evaluar la frecuencia de dolor abdominal como parte del cuadro clínico, aunque la diarrea mucosa fue más frecuente entre los casos (169). El hallazgo de disentería en los pacientes de este estudio, contrasta con lo reportado en revisiones y de acuerdo a lo expresado por Hyun-Shin, es rara esta manifestación, pues aunque se reconoce que la infección por *C. difficile* puede contener moco y sangre oculta, es poco frecuente la presencia de hematoquecia o melenas (180).

Aunque la definición de caso plantea la presencia de  $\geq 3$  episodios de diarrea en 24 horas, los datos de distintos reportes, respecto a la duración de la misma y previo al diagnóstico de la infección, muestran un comportamiento

diferente. En el presente estudio, se encontró un promedio de síntomas de  $6,9 \pm 5,1$  días, lo que es similar a lo encontrado por Bouza en España y Smith en EEUU, quienes informaron una duración promedio de síntomas y estancia de 5 días, y Oñate-Gutiérrez en Cali, Colombia (7 días) (167, 169, 181). No obstante, otras series informan un promedio de duración de síntomas que son superiores, como en Francia, 13 días y en Alemania es de 16 días (168, 174). Por el contrario, un estudio conducido por Kundrapu et al, en el Cleveland Veterans Affairs Medical Center durante los años 2011-2012, encontró un promedio de síntomas de 2,0 días (182). Este mismo estudio encontró que las razones asociadas a retraso en el diagnóstico son múltiples y, entre otras, puede obedecer a dificultad o retraso en la comunicación al personal de enfermería acerca de la solicitud de la prueba diagnóstica, no proveer al paciente el dispositivo para recolección de la muestra, rechazo en el laboratorio por etiquetado inadecuado y procesamiento por lotes de las muestras (182).

Entre los métodos convencionales para el diagnóstico de la infección por *C. difficile*, se encuentran el cultivo toxigénico y el ensayo de toxicidad directa. En la actualidad, existen nuevas técnicas fáciles y rápidas de realizar. Una de ellas es la detección de GDH y toxinas A y B, método empleado en la confirmación de la mayoría de casos de nuestro estudio (83,3%). Otra técnica es la detección de la toxina B a través de PCR-en tiempo real. Aunque se reconoce que todas las técnicas empleadas tienen limitaciones, en muchos centros, se ha optado por estudios basados en identificación de ADN, dado que provee más alta sensibilidad y especificidad (3, 11, 178, 180).

La escala APACHE II de los pacientes ingresados al estudio, tras la admisión a unidad de cuidados intensivos o intermedios, fue de  $19,2 \pm 7,2$  puntos, implicando un riesgo de mortalidad estimado cercano al 25%. Hallazgos similares fueron reportados en España por Álvarez-Lerma en el año 2012, (APACHE II=19,9) y por otro grupo de autores en 2010-2011 (APACHE II=17), lo cual es inferior a lo encontrado en otras series como la de Lee en Taiwán

(APACHE II=24) y Tirpapour *et al* en Londres (APACHE II=22) (170, 172, 176, 177).

Distintos factores de riesgo se han identificado para la infección por *Clostridium difficile*. En este estudio, se encontró que los principales factores asociados incluyeron: recibir tratamiento con inhibidores de bomba de protones (100% de pacientes), uso hasta 3 meses previos de antibiótico, tratamiento con opioides IV (58,3%) y necesidad de cirugía urgente (58,3%). Aunque ha sido controversial, recientes análisis han mostrado la asociación existente entre el uso de inhibidores de bomba de protones y el riesgo de padecer infección asociada por *C. difficile*. El metanálisis realizado por Cao *et al* (n=50 estudios), mostró un riesgo aumentado de infección por *C. difficile* en pacientes con exposición a este grupo de medicamentos (OR: 1,26; IC95% 1,12-1,39). Esto también fue reportado por Trifan *et al*, tras realizar un metanálisis de 56 estudios que incluyó 356.683 pacientes (OR: 1,99; IC95%: 1,73-2,30,  $p < 0,001$ ) y por Oshima *et al*, en un análisis de 67 estudios y 286.018 pacientes (OR: 2,34; IC95%: 1,94–2,82) (111, 183, 184).

Un estudio realizado en Hungría y con seguimiento durante 3 años (2010-2013), encontró que en 247 pacientes se presentó infección por *C. difficile* y entre los factores asociados al desarrollo de la enfermedad se halló el uso de IBP (OR: 2,082,  $P < 0,001$ ) y el antecedente de hospitalización en el año previo (OR: 3,167,  $p < 0,001$ ) (185).

Respecto a la asociación con medicamentos antibióticos, es ampliamente reconocido que estos representan el más importante factor de riesgo. La ampicilina, amoxicilina, cefalosporinas, clindamicina y fluoroquinolonas son los antibióticos más frecuentemente asociados con la enfermedad (3, 178, 180). En el presente estudio, se encontró que el 91,7% de los pacientes que presentaron la infección recibieron tratamiento antibiótico dentro de los tres meses previos a la admisión o desarrollo de síntomas. Esto es similar a lo descrito por Khanafer *et al* en pacientes de unidad de cuidados intensivos de un centro en Francia (2007-2011) y con diagnóstico establecido de infección

por *C. difficile*, quienes reportaron que el 95% de paciente recibió tratamiento antibiótico en los meses previos a hospitalización (3). Esta proporción de pacientes es superior a lo encontrado en Sudáfrica (84%), Alemania (75,6%), en Colombia por Marín *et al* (74,0%) y por Gualtero *et al* (66,7%) (165, 171, 173, 174). De manera relevante, en España, se encontró que el 83,3% de pacientes tuvieron exposición a antimicrobianos 7 días previos al diagnóstico (170).

La importante proporción de pacientes con antecedente de uso de tratamiento antibiótico durante los 90 días previos a la infección, reafirma la fuerte asociación descrita entre la exposición a antimicrobianos y el desarrollo de la infección por *C. difficile*. Debida, probablemente, a alteración en la microbiota intestinal y alteración en el mecanismo de barrera, lo cual permite la colonización y desarrollo de síntomas de la infección (178, 180).

Los medicamentos más implicados en esta serie de pacientes fueron piperacilina/tazobactam, cefalosporinas, carbapenémicos y vancomicina; mientras en una proporción inferior se halló exposición a metronidazol y solo en un paciente se reportó clindamicina. El estudio de Legenza *et al* en Sudáfrica (2015), con un total de 250 pacientes, encontró que entre los antibióticos que los pacientes recibieron hasta 90 días previos al ingreso los más frecuentes fueron: cefalosporinas, penicilinas y quinolonas, sin encontrar asociación con clindamicina (171). Por otra parte, en Francia se encontró que los antimicrobianos principalmente relacionados a la infección fueron: fluoroquinolonas (65%), cefalosporinas de tercera generación (55%), amoxicilina/ácido clavulánico (40%) y piperacilina/ tazobactam (37,5%) (168). En Alemania, se reportó que los antibióticos principalmente asociados fueron: cefalosporinas de tercera generación (66,1%) y penicilina (45,2%) (174).

Estudios publicados en Colombia, como el dirigido por Gualtero *et al* en Bogotá, encontró que los medicamentos implicados en mayor medida fueron: betalactámicos (63,9%), metronidazol (19,4%) y trimetoprim/sulfametoxazol (16,7%) (165). De manera similar, Marín *et al* en Cali, halló que los antibióticos

recibidos por los pacientes durante los 6 meses previos incluyeron: cefalosporinas de segunda generación (100%), penicilina (32,3%) y carbapenémicos (22,0%), ningún paciente clindamicina (173).

El antecedente de exposición y tipo de antimicrobianos relacionados difiere entre los estudios y puede explicarse por las variaciones existentes en el perfil epidemiológico de las diferentes regiones, incluso entre instituciones de una misma región, lo cual puede determinar el uso de determinados medicamentos antimicrobianos. Aunque algunos antimicrobianos tienen una fuerte asociación con factores de riesgo para el desarrollo de la infección por *C. difficile*; también se reconoce que aquellos con actividad *in vitro* frente a este bacilo gram positivo, como metronidazol y vancomicina, pueden predisponer al desarrollo de la enfermedad (3, 178, 180).

Otros factores de riesgo asociados a desarrollo de la infección y que fueron reportado en la serie de pacientes de este estudio, incluyen edad >64 años, necesidad de cirugía urgente, uso de nutrición enteral, opioides IV, esteroides, requerimiento de ventilación mecánica, entre otros. Al respecto, Alvarez-Lerma en España, encontró en 68 pacientes con diagnóstico de infección por *C. difficile*, confirmado a través de prueba de inmunoanálisis enzimático para las toxinas A y B, estudios de citotoxinas celulares o cultivos toxigénicos, prueba de la reacción en cadena de la polimerasa, que los principales factores de riesgo incluyeron CDI edad >64 años, uso de antimicrobianos 7 días previos al diagnóstico (83,3%), la utilización de nutrición enteral (33,8%), uso inhibidores H2 (57,4%) y menos frecuentemente quimioterapia (10,3%) y cirugía gastroduodenal (7,4%). En 64,8% pacientes con ICD se identificaron 3 o más factores específicos para desarrollar esta infección (170). De manera similar, Smith en EEUU (2006-2010) en un análisis que incluyó 474.513 pacientes, encontró que aquellos mayores de 85 años tenían un riesgo aumentado de 13,7 veces, comparado con aquellos menores de esta edad (181).

Varios estudios han descrito las comorbilidades más frecuentes en los pacientes que desarrollan infección por *C. difficile*. En Alemania, se encontró

que, en orden de frecuencia fueron: enfermedad maligna (31,8%), insuficiencia renal crónica (26,8%), diabetes mellitus (18,3%), neutropenia (13,4%) (174). En Reino Unido fueron: insuficiencia respiratoria (28,9%) y sepsis (21,6%) (177); mientras en España, la comorbilidad más común fue enfermedad cardiovascular (40%) (167) y en Taiwán, la principal fue diabetes mellitus (42,9%), seguida por enfermedad renal (21,4%) y enfermedades crónicas del corazón (21,4%) (176). Reportes previos en Colombia, muestran una alta proporción de enfermedad renal crónica (41,7%) y diabetes mellitus (30,6%) (165). Difiriendo de estos reportes, en los pacientes de este estudio se encontró que las comorbilidades más frecuentes incluyeron: hipertensión arterial (33,3%), EPOC (33,3%), diabetes mellitus (25%) e infección por VIH (25,0%). Contrario al reporte de Gualtero (Bogotá, Colombia), la enfermedad renal crónica solo se registró en el 8,3% de casos (165).

Los pacientes infectados por el VIH, especialmente aquellos que están gravemente inmunodeprimidos, pueden ser particularmente susceptibles a la infección sintomática por *C. difficile*; debido a las anomalías en la inmunidad humoral, porque sus anticuerpos séricos son inadecuados para protegerlos contra la enfermedad (186). Algunos factores de riesgo específicos para el desarrollo de ICD en los pacientes con VIH incluyen: hipoalbuminemia, recuento de CD4 450 células/mm<sup>3</sup>, estancia hospitalaria o centro de atención médica, aunque también se han documentado casos procedentes del domicilio del paciente en el momento del diagnóstico, uso de supresión del ácido gástrico(187-189). En esta investigación, se documentó una fuerte asociación en los pacientes con antecedente de la infección por VIH (IRR=6,46; IC 95%: 1,75- 23,88).

El tratamiento farmacológico empleado en los pacientes de este estudio mostró que la mayoría fueron tratados con metronidazol (75%) y vancomicina oral (8,3%), lo cual muestra relación y seguimiento de las recomendaciones respecto a tratamiento de casos de acuerdo a severidad del mismo (3, 178, 180). El uso de metronidazol como medicamento principal, también ha sido reportado en EEUU (72% de casos) (146), Sudáfrica (70,0%) (171), Francia

(62,5%) (168), Alemania (56,1%) (174), entre otros. Los pacientes del presente estudio tuvieron buena respuesta al tratamiento médico instaurado y, durante el seguimiento, no se registraron casos de recaídas o recurrencia de la enfermedad.

## 8. FORTALEZAS

Este estudio buscó determinar la prevalencia de infección por *C. difficile* en pacientes que ingresan a unidades de cuidados intensivos de Pereira. Algunas de las fortalezas se mencionan a continuación:

La búsqueda de los pacientes se realizó de manera activa y la selección de los casos estuvo acorde las recomendaciones actuales generadas por las sociedades científicas nacionales e internacionales.

El diagnóstico se realizó con base en parámetros estandarizados de calidad e incluyó profesionales en microbiología entrenados para la lectura y la realización de la prueba.

La inclusión de dos instituciones de salud y centros de referencia de la región, permiten realizar una aproximación y extrapolar los datos obtenidos a otros centros con similares características

Los hallazgos encontrados aportan importante información epidemiológica que permite conocer la situación del problema en el medio colombiano y puede convertirse en sustento para plantear medidas que busquen disminuir o mitigar la magnitud de la infección, en las unidades de cuidados intensivos de la ciudad.



## **9. LIMITACIONES**

A pesar de los importantes hallazgos de este estudio, se reconocen varias limitaciones que deben tenerse en cuenta a la hora de interpretar los resultados, algunas son:

El corto periodo de seguimiento (6 meses) implica además una baja cantidad de casos confirmados y los resultados obtenidos en este grupo de pacientes, solo pueden ser extrapolados a población con similares características sociodemográficas. Esto debido a que no se incluyó la totalidad de unidades de cuidados intensivos o intermedios de la ciudad.

Adicionalmente, es posible que se hayan presentado dificultades en la recolección de datos y en el seguimiento de los pacientes, especialmente relacionados a errores en la digitación y en, algunos casos, a la ausencia de datos específicos.

## 10. CONCLUSIONES

1. Los hallazgos de este estudio incluyeron 12 casos de infección por *C difficile* confirmados según métodos diagnósticos reconocidos y aceptados en las recomendaciones internacionales.
2. La mayoría de infecciones se presentaron en hombres mayores de 65 años, a diferencia de otros reportes nacionales, donde predominan mujeres y pacientes de menor edad.
3. Por definición, todos los pacientes deben presentar más de 3 episodios de diarrea al día y, por lo tanto, en consideración de los factores propios del paciente agudamente enfermo, esta infección deberá tenerse presente en aquellos con cuadro diarreico con o sin disentería; especialmente, quienes hayan recibido tratamiento médico con inhibidores de la bomba de protones y antibióticos.
4. Otros factores, como el antecedente de VIH, deben contemplarse en todo momento pues parecen aumentar el riesgo de la infección.
5. El tratamiento farmacológico en los pacientes con casos confirmados, sigue las recomendaciones de las guías internacionales y ellos han mostrado una buena respuesta al mismo, lo cual fue evidenciado tras el manejo médico.

## 11. RECOMENDACIONES

De acuerdo a lo anterior, conocer las características y factores de riesgo asociados al desarrollo de infección por *C difficile* permitirá establecer medidas locales que busquen disminuir la tasa de infecciones por este microorganismo y la morbilidad asociada.

Estudios adicionales con un seguimiento de mayor tiempo y que involucre pacientes de todas las unidades de cuidados intensivos de la ciudad de Pereira, ofrecerán una mejor caracterización e identificación de los factores de riesgo.

Debido a la baja prevalencia de la infección en las 2 instituciones evaluadas, debe considerarse la instauración de algoritmo diagnóstico y de tratamiento por pasos, para los pacientes que desarrollan diarrea durante la estancia hospitalaria, como se muestra a continuación:

Paso 1: Suspender laxantes.

Paso 2: Evaluar el estado de hidratación y electrolitos, corregir estas alteraciones de ser necesario, Si se presenta alteración electrolítica debe ser considerado como diarrea severa.

Paso 3: En los pacientes con diarrea severa, pacientes con algún grado de inmunosupresión y/o antecedente de VIH o diarrea disintérica, debe considerarse origen infeccioso y realizar estudios dirigidos.

Paso 4: Realizar historia clínica completa; evaluar los factores de riesgo para desarrollo de ICD; si están presentes, considerar la realización de una aproximación diagnóstica con GDH, si esta es negativa, considerar otras alternativas. Si es positiva, continuar con el algoritmo para la confirmación del diagnóstico de ICD.

Paso 5: Dar tratamiento según la gravedad con metronidazol o vancomicina oral.



## II. ANEXOS

### Anexo 1. Instrumento de recolección de la información



#### 1.- Identificación

Código de identificación:  Cedula:   
Nombre:  Edad:  Sexo: (1: varón; 0: mujer)  Institución: (1: HUSJ; 0: Clínica los rosales)  (1: Unidad de Cuidados Intensivos; 0: Unidad de cuidados Intermedios):   
Lugar de Procedencia:  Fecha de diligenciamiento:  Fecha de Ingreso a UCI o UCINT:  Fecha de alta de la UCI o UCINT:  Fecha de alta del hospital o clínica:  Exitus: (1: si; 0: No):  Fecha de exitus:  Diagnóstico de ingreso en UCI (1: Médico; 2: Coronario; 3: Traumáticos; 4: Quirúrgicos; 5: Oncológicos ):  Apache II ingreso (puntuación):  SOFA ingreso (puntuación):  Procedencia del paciente (1: Domicilio; 2: Hospitalización; 3: Otro centro asistencial; 4: urgencias )

#### 2.- Dispositivos invasivos

Sonda urinaria (1: si; 0: No):  Fecha de inserción:  fecha de retiro:  Tiempo de Uso:  Sonda naso/orogástrica (1: si; 0: No):  Fecha de inserción:  fecha de retiro  Tiempo de Uso:  Catéter Venoso Central (1: si; 0: No):  Fecha de inserción:  fecha de retiro:  Tiempo de Uso:  Ventilación mecánica (1: si; 0: No):  Fecha de inserción:  fecha de retiro  Tiempo de Uso:

3.- Cumple Criterios de Inclusión (0: No; 1: Sí):

#### 4.- Antecedentes patológicos:

Hipertensión arterial (0: No; 1: Sí): ☐ Diabetes (0: No; 1: Sí): ☐  
Dislipidemia (0: No; 1: Sí): ☐ Insuficiencia renal (0: No; 1: Sí): ☐  
Insuficiencia cardíaca (0: No; 1: Sí): ☐ Insuficiencia hepática y Cirrosis (0:  
No; 1: Sí): ☐ Inmunodepresión y VIH (0: No; 1: Sí): ☐ Neoplasia órgano  
sólido (0: No; 1: Sí): ☐ Neoplasia hematológica (0: No; 1: Sí): ☐ EPOC  
(0: No; 1: Sí): ☐ Desnutrición- hipoalbuminemia (0: No; 1: Sí): ☐  
Trasplante de órgano sólido (0: No; 1: Sí): ☐ Quimioterapia y/o  
Radioterapia (0: No; 1: Sí): ☐

#### 5.- Características del episodio de diarrea

Origen del paciente (1: Comunitario 2: Nosocomial extra-UCI 3: Nosocomial  
intra-UCI) ☐ Estancia hospitalizado antes del episodio de diarrea ☐  
días, Estancia en la UCI o UCINT antes del episodio de diarrea ☐ días,  
Tiempo de evolución en el momento de la toma de muestra ☐ días,  
Numero de deposiciones en 24 horas previo a la toma de la muestra: ☐  
diarrea con sangre (0: No; 1: Sí): ☐ duración de la diarrea: ☐ días,  
SOFA en el momento del episodio (puntuación): ☐ Fiebre (0: No; 1: Sí):  
☐, Dolor abdominal (0: No; 1: Sí): ☐, Náuseas (0: No; 1: Sí): ☐  
, vómitos (0: No; 1: Sí): ☐, Disnea (0: No; 1: Sí): ☐ prueba diagnóstica  
solicitada: (0: No; 1: Sí): ☐ Tomada (0: No; 1: Sí): ☐ Razón por la que  
no fue tomada (1: resolución espontánea 2: no se sabe 3: No firma  
consentimiento informado)



## 6.- Paraclínicos

Hb:  g/dl Hto:  % Leucocitos:   $\times 10^3$  células/mm<sup>3</sup> Creatinina:   
mg/dl BUN:  mg/dl Na:  mEq/l K:  mEq/l Cloro:  mEq/l Gases  
arteriales Ph:  PCO<sub>2</sub>  mmHg; PO<sub>2</sub>  mmHg; Bicarbonato:   
mmol/L; BE:  mmol/L; Lactato:  mmol/L.

## 7.- Gravedad del episodio diarreico (1: leve 2: moderado 3: grave):

Complicaciones (1: Megacolon Toxico, 2: Alteración electrolítica, 3: colitis  
seudomembranosa)

## 8.- Factores de riesgo

Edad mayor de 64 años (0: No; 1: Sí): , VIH (0: No; 1: Sí): ,  
Ventilación mecánica 48 horas antes del episodio diarreico (0: No; 1: Sí):  
, inhibidores bomba de protones (0: No; 1: Sí): , antagonistas del  
receptor de histamina (0: No; 1: Sí): , Opioides intravenoso (0: No; 1: Sí):  
, Nutrición enteral (0: No; 1: Sí): , Nutrición parenteral (0: No; 1: Sí):  
, Tiempo de duración de la nutrición previo al episodio de diarrea   
días, Hospitalización en las últimos 3 meses (0: No; 1: Sí): , Necesidad  
de cirugía urgente durante el ingreso (1: si; 0: No):  Gastrointestinal (1: si;  
0: No):  Otra  Cual , Uso de antibióticos en los  
últimos 3 meses (0: No; 1: Sí): , cuanto tiempo antes del episodio  
diarreico  días, Cual o cuales (1: Penicilina, 2: Piperacilina tazobactam  
3: Cefalosporinas, 4: Fluoroquinolonas 5: Carbapenémicos 6: Metronidazol  
7: Clindamicina 8: Vancomicina: 9: Otro) , , , , , ,  
, , , otro:  Numero de antibióticos  
utilizados en los últimos 3 meses , cuantos factores de riesgo presenta

en el momento del episodio diarreico ☐, Hemodiálisis (0: No; 1: Sí): ☐,  
Uso reciente de esteroides (0: No; 1: Sí): ☐.

### 9.- Resultado

Glutamato Deshidrogenasa (GDH) (0: negativo 1: positivo) ☐, toxina A (0:  
negativo 1: positivo) ☐, Toxina B (0: negativo 1: positivo) ☐,  
Panel Gastrointestinal (PCR - FilmArray) (0: negativo 1: positivo) ☐  
*Clostridium difficile* toxina A/B (0: negativo 1: positivo) ☐, Otro: otro:

10.- Tratamiento antibiótico (0: No; 1: Sí): ☐ aplica para los casos  
positivos Cual (1: Metronidazol 2: Vancomicina oral 3: otro) : ☐.

### 11.- Respuesta clínica

Curación (0: No; 1: Sí): ☐ Mejoría (0: No; 1: Sí): ☐ Falla terapéutico (0:  
No; 1: Sí): ☐, No evaluable (0: No; 1: Sí): ☐, reinfección (0: No; 1: Sí):  
☐.

12.- Estado al egreso (0: Muerto 1: vivo) muerte relacionada a la ICD (0: No;  
1: Sí): ☐

13.- Nombre del recolector \_\_\_\_\_



## Anexo 2. Formato de solicitud de realización de la prueba GDH, Toxina A y B por el laboratorio de las instituciones.

FECHA DE TOMA DE LA MUESTRA _____			
NOMBRE		CÉDULA	
RESULTADO	GDH	TOXINA A	TOXINA B

## Anexo 3. Consentimiento informado

En este consentimiento informado usted y/o su familiar declara por escrito su libre voluntad de participar, luego de comprender en qué consiste la Investigación Prevalencia de Infección por *Clostridium difficile* en pacientes hospitalizados en dos Unidades de Cuidado Intensivo de referencia de la ciudad de Pereira-Colombia adelantada por el Semillero de Investigación de la especialización en medicina crítica y cuidados intensivos (SIRMEC) de la Universidad Tecnológica de Pereira. Le solicitamos colaborar de la manera más honesta y completa posible.

**Objetivo de la Investigación:** Estimar la prevalencia y los factores asociados con la Infección por *Clostridium difficile* en pacientes hospitalizados en la UCIs del Hospital Universitario San Jorge y Clínica los Rosales durante el año 2017.

**Justificación de la Investigación:** Epidemiológicamente las tasas de infección constituyen unos excelentes indicadores de proceso, estructura y resultado de la actividad hospitalaria. La información que se desprende de la vigilancia constituirá un valioso elemento de conocimiento para todo el personal que desempeña labores asistenciales en una Unidad de cuidados intensivos. Este nuevo conocimiento permitirá generar una visión más amplia acerca de la situación actual de dicha infección en nuestro medio y así poder orientar y dirigir las actividades de control de la misma.

**Procedimientos:** se realizará prueba de GDH y toxina A y B en materia fecal en pacientes quienes presentan diarrea, se obtendrán datos de la historia clínica para evaluar los factores asociados a esta infección.

**Beneficios:** se tendrá datos sobre la necesidad de la realización de pruebas inmunológicas que diagnostiquen de forma temprana esta infección en la comunidad de Inguencia y así evitar complicaciones posteriores.

**Factores y riesgos:** Esta es una investigación con riesgo mínimo dado por la necesidad de tomar muestras de laboratorio, sin embargo, no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada de variables biológicas, fisiológicas, psicológicas o sociales de las personas que participan en el estudio.

**Garantía de respuesta a inquietudes:** los participantes recibirán respuesta a cualquier pregunta que les surja acerca de la investigación.

**Garantía de libertad:** La participación en el estudio es libre y voluntaria. Los participantes podrán retirarse de la investigación en el momento que lo deseen, sin ningún tipo de consecuencia.

**Garantía de información:** los participantes recibirán el resultado de la muestra inmediatamente se ha procesado.

**Confidencialidad:** los nombres de las personas y toda información que proporcionada, serán tratados de manera privada y con estricta confidencialidad, estos se consolidarán en una base de datos como parte del trabajo investigativo. Solo se divulgará la información global de la investigación, en un informe en el cual se omitirán los nombres propios de las personas de las cuales se obtenga información.

**Recursos económicos:** en caso que existan gastos durante el desarrollo de la investigación, serán costeados con el presupuesto de la investigación.

**A quien contactar:** Con e-mail carlos.pedroza@utp.edu.co, hamiet98@hotmail.com, comité de ética de la universidad tecnológica de Pereira, en el teléfono 3137300 extensión 7742, edificio 12 oficina 12 -603A y comitedeetico@utp.edu.co

Certifico que he leído la anterior información, que entiendo su contenido y que estoy de acuerdo en participar en la investigación. Se firma en la ciudad de \_\_\_\_\_ a los \_\_\_\_ días, del mes \_\_\_\_\_ del año 201 \_\_\_\_.

Nombre del Informante  
Cédula:

\_\_\_\_\_  
Firma del Informante

Nombre del testigo 1  
Cédula:

\_\_\_\_\_  
Firma del testigo 1

Nombre del testigo 2  
Cédula:

\_\_\_\_\_  
Firma del testigo 2

### III. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bobo LD, Dubberke ER, Kollef M. Clostridium difficile in the ICU: the struggle continues. Chest. 2011;140(6):1643-53.
2. Dubberke ER, Olsen MA. Burden of Clostridium difficile on the Healthcare System. Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. 2012;55(Suppl 2):S88-92.
3. McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, Bakken JS, Carroll KC, Coffin SE, et al. Clinical Practice Guidelines for Clostridium difficile Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. 2018;66(7):e1-e48.
4. Alcalá L, Martín A, Marín M, Sánchez-Somolinos M, Catalán P, Peláez T, et al. The undiagnosed cases of Clostridium difficile infection in a whole nation: where is the problem? Clinical Microbiology and Infection. 2012;18(7):E204-E13.
5. Marín JA. Factores asociados a infección por Clostridium Difficile en un hospital universitario de Bogotá [Especialización]: Universidad del Rosario; 2014.
6. Grille P, Olano E, Bertullo H, Bagnulo H. Estudio sobre diarrea en una unidad de cuidados intensivos quirúrgica. Revista Médica del Uruguay. 2006;22:136-42.
7. Izaguirre Guerricagotia L, Truchuelo Aragón A. Prevalencia de diarrea en las unidades de pacientes en estado crítico de España: estudio multicéntrico. Enfermería Intensiva. 2011;22(2):65-73.
8. Zahar J-R, Schwebel C, Adrie C, Garrouste-Orgeas M, François A, Vesin A, et al. Outcome of ICU patients with Clostridium difficile infection. Critical Care. 2012;16(6):1-10.
9. Karanika S, Paudel S, Zervou FN, Grigoras C, Zacharioudakis IM, Mylonakis E. Prevalence and Clinical Outcomes of Clostridium difficile Infection in the Intensive Care Unit: A Systematic Review and Meta-Analysis. Open Forum Infectious Diseases. 2016;3(1):ofv186.
10. Salva S, Durán N, Rodríguez V, Nieto L, Serra J, Rello J. Clostridium difficile in the ICU: Study of the incidence, recurrence, clinical characteristics and complications in a University Hospital. Medicina Intensiva. 2014;38(3):140-5.
11. Bagdasarian N, Rao K, Malani PN. Diagnosis and treatment of Clostridium difficile in adults: a systematic review. Jama. 2015;313(4):398-408.
12. Banaei N, Anikst V, Schroeder LF. Burden of Clostridium difficile infection in the United States. The New England journal of medicine. 2015;372(24):2368-9.
13. Chitnis AS, Holzbauer SM, Belflower RM, et al. Epidemiology of community-associated clostridium difficile infection, 2009 through 2011. JAMA Internal Medicine. 2013;173(14):1359-67.
14. Leffler DA, Lamont JT. Clostridium difficile Infection. New England Journal of Medicine. 2015;372(16):1539-48.
15. Alcalá-Hernández L, Mena-Ribas A, Niubó-Bosh J, Marín-Arriaza M. Diagnóstico microbiológico de la infección por Clostridium difficile. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2015.

16. Donskey CJ, Kundrapu S, Deshpande A. Colonization versus carriage of *Clostridium difficile*. *Infectious disease clinics of North America*. 2015;29(1):13-28.
17. Loo VG. Environmental Interventions to Control *Clostridium difficile*. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2015;29(1):83-91.
18. George WL. Antimicrobial Agent-Associated Colitis and Diarrhea: Historical Background and Clinical Aspects. *Reviews of Infectious Diseases*. 1984;6:S208-S13.
19. Lawson PA, Citron DM, Tyrrell KL, Finegold SM. Reclassification of *Clostridium difficile* as *Clostridioides difficile* (Hall and O'Toole 1935) Prévot 1938. *Anaerobe*. 2016;40:95-9.
20. Oren A, Rupnik M. *Clostridium difficile* and *Clostridioides difficile*: Two validly published and correct names. *Anaerobe*. 2018;52:125-6.
21. Brearly S, Armstrong GR, Nairn R, Gornall P, Currie ABM, Buick RG, et al. Pseudomembranous colitis: A lethal complication of Hirschsprung's disease unrelated to antibiotic usage. *Journal of Pediatric Surgery*. 1987;22(3):257-9.
22. Tedesco FJ, Barton RW, Alpers DH. Clindamycin-associated colitis. A prospective study. *Annals of internal medicine*. 1974;81(4):429-33.
23. Bartlett JG. Experimental studies of antibiotic associated colitis. *Scandinavian journal of infectious diseases Supplementum*. 1980(Suppl 22):11-5.
24. Janoir C. Virulence factors of *Clostridium difficile* and their role during infection. *Anaerobe*. 2016;37:13-24.
25. Carroll KC, Bartlett JG. Biology of *Clostridium difficile*: implications for epidemiology and diagnosis. *Annual review of microbiology*. 2011;65:501-21.
26. Liz'ko NN, Shilov VM. [Modern concept of the makeup of intestinal microflora in healthy adults]. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, i immunobiologii*. 1979(2):36-41.
27. Britton RA, Young VB. Role of the intestinal microbiota in resistance to colonization by *Clostridium difficile*. *Gastroenterology*. 2014;146(6):1547-53.
28. Aas J, Gessert CE, Bakken JS. Recurrent *Clostridium difficile* colitis: case series involving 18 patients treated with donor stool administered via a nasogastric tube. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2003;36(5):580-5.
29. Britton RA, Young VB. Interaction between the intestinal microbiota and host in *Clostridium difficile* colonization resistance. *Trends in microbiology*. 2012;20(7):313-9.
30. Rodriguez C, Taminiau B, Van Broeck J, Delmée M, Daube G. *Clostridium difficile* infection and intestinal microbiota interactions. *Microbial Pathogenesis*. 2015;89:201-9.
31. Vedantam G, Clark A, Chu M, McQuade R, Mallozzi M, Viswanathan VK. *Clostridium difficile* infection: Toxins and non-toxin virulence factors, and their contributions to disease establishment and host response. *Gut Microbes*. 2012;3(2):121-34.
32. Awad MM, Johanesen PA, Carter GP, Rose E, Lyras D. *Clostridium difficile* virulence factors: Insights into an anaerobic spore-forming pathogen. *Gut Microbes*. 2014;5(5):579-93.
33. Hundsberger T, Braun V, Weidmann M, Leukel P, Sauerborn M, von Eichel-Streiber C. Transcription analysis of the genes *tcdA-E* of the pathogenicity locus of *Clostridium difficile*. *European journal of biochemistry*. 1997;244(3):735-42.

34. Mani N, Dupuy B. Regulation of toxin synthesis in *Clostridium difficile* by an alternative RNA polymerase sigma factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001;98(10):5844-9.
35. Cohen SH, Tang YJ, Silva J, Jr. Analysis of the pathogenicity locus in *Clostridium difficile* strains. *The Journal of infectious diseases*. 2000;181(2):659-63.
36. Alfa MJ, Kabani A, Lyster D, Moncrief S, Neville LM, Al-Barrak A, et al. Characterization of a toxin A-negative, toxin B-positive strain of *Clostridium difficile* responsible for a nosocomial outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Journal of clinical microbiology*. 2000;38(7):2706-14.
37. Chandrasekaran R, Lacy DB. The role of toxins in *Clostridium difficile* infection. *FEMS microbiology reviews*. 2017;41(6):723-50.
38. Aktories K, Schwan C, Jank T. *Clostridium difficile* Toxin Biology. *Annual review of microbiology*. 2017;71:281-307.
39. Zhang Y, Yang Z, Gao S, Hamza T, Yfantis HG, Lipsky M, et al. The role of purified *Clostridium difficile* glucosylating toxins in disease pathogenesis utilizing a murine cecum injection model. *Anaerobe*. 2017;48:249-56.
40. Shen A. *Clostridium difficile* toxins: mediators of inflammation. *Journal of innate immunity*. 2012;4(2):149-58.
41. Borriello SP, Wren BW, Hyde S, Seddon SV, Sibbons P, Krishna MM, et al. Molecular, immunological, and biological characterization of a toxin A-negative, toxin B-positive strain of *Clostridium difficile*. *Infection and immunity*. 1992;60(10):4192-9.
42. Drudy D, Fanning S, Kyne L. Toxin A-negative, toxin B-positive *Clostridium difficile*. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2007;11(1):5-10.
43. Shin BM, Kuak EY, Yoo SJ, Shin WC, Yoo HM. Emerging toxin A-B+ variant strain of *Clostridium difficile* responsible for pseudomembranous colitis at a tertiary care hospital in Korea. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2008;60(4):333-7.
44. Aktories K, Schwan C, Jank T. *Clostridium difficile* Toxin Biology. *Annual review of microbiology*. 2017;71(1):281-307.
45. Perelle S, Gibert M, Bourlioux P, Corthier G, Popoff MR. Production of a complete binary toxin (actin-specific ADP-ribosyltransferase) by *Clostridium difficile* CD196. *Infection and Immunity*. 1997;65(4):1402-7.
46. Lopardo G, Morfin-Otero R, Moran-Vazquez II, Noriega F, Zambrano B, Luxemburger C, et al. Epidemiology of *Clostridium difficile*: a hospital-based descriptive study in Argentina and Mexico. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2015;19(1):8-14.
47. Alyousef AA. *Clostridium difficile*: Epidemiology, Pathogenicity, and an Update on the Limitations of and Challenges in Its Diagnosis. *Journal of AOAC International*. 2017.
48. Dávila LP, Garza-González E, Rodríguez-Zulueta P, Morfín-Otero R, Rodríguez-Noriega E, Vilar-Compte D, et al. Increasing rates of *Clostridium difficile* infection in Mexican hospitals. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2017;21(5):530-4.
49. Oñate-Gutiérrez JM, Villegas MV, Correa A. Prevalencia y factores relacionados con la infección por *Clostridium difficile* en un centro hospitalario de alta complejidad en Cali (Colombia). *Infectio*. 2016.

50. Gutierrez-Pizarra A, Martin-Villen L, Alcala-Hernandez L, Marin Arriaza M, Balandin-Moreno B, Aragon-Gonzalez C, et al. Epidemiology and risk factors for *Clostridium difficile* infection in critically ill patients in Spain: The PROCRID study. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica*. 2017.
51. Kelly CP, LaMont JT. *Clostridium difficile* — More Difficult Than Ever. *New England Journal of Medicine*. 2008;359(18):1932-40.
52. Marston HD, Dixon DM, Knisely JM, Palmore TN, Fauci AS. Antimicrobial Resistance. *Jama*. 2016;316(11):1193-204.
53. (CDC) CfDCaP. Severe *Clostridium difficile*-associated disease in populations previously at low risk--four states, 2005. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 2005;54(47):1201-5.
54. Lessa FC. Community-associated *Clostridium difficile* infection: how real is it? *Anaerobe*. 2013;24:121-3.
55. Rodriguez C, Hakimi DE, Vanleysssem R, Taminiau B, Van Broeck J, Delmee M, et al. *Clostridium difficile* in beef cattle farms, farmers and their environment: Assessing the spread of the bacterium. *Veterinary microbiology*. 2017;210:183-7.
56. Warriner K, Xu C, Habash M, Sultan S, Weese SJ. Dissemination of *Clostridium difficile* in food and the environment: Significant sources of *C. difficile* community-acquired infection? *Journal of applied microbiology*. 2017;122(3):542-53.
57. Kurti Z, Lovasz BD, Mandel MD, Csima Z, Golovics PA, Csako BD, et al. Burden of *Clostridium difficile* infection between 2010 and 2013: Trends and outcomes from an academic center in Eastern Europe. *World Journal of Gastroenterology*. 2015;21(21):6728-35.
58. Reveles KR, Lee GC, Boyd NK, Frei CR. The rise in *Clostridium difficile* infection incidence among hospitalized adults in the United States: 2001-2010. *American Journal of Infection Control*. 2014;42(10):1028-32.
59. Banks A, Brown DJ, Mather H, Coia JE, Wiuff C. Sentinel community *Clostridium difficile* infection (CDI) surveillance in Scotland, April 2013 to March 2014. *Anaerobe*. 2016;37:49-53.
60. Mitchell BG, Gardner A. Mortality and *Clostridium difficile* infection: a review. *Antimicrobial resistance and infection control*. 2012;1:20-.
61. Ramírez-Rosales A, Cantú-Llanos E. Mortalidad intrahospitalaria en pacientes con diarrea asociada a infección por *Clostridium difficile*. *Revista de Gastroenterología de México*. 2012;77(2):60-5.
62. Kwon JH, Olsen MA, Dubberke ER. The morbidity, mortality, and costs associated with *Clostridium difficile* infection. *Infectious disease clinics of North America*. 2015;29(1):123-34.
63. Barbut F, Bouée S, Longepierre L, Goldberg M, Bensoussan C, Levy-Bachelot L. Excess mortality between 2007 and 2014 among patients with *Clostridium difficile* infection: a French health insurance database analysis. *Journal of Hospital Infection*. 2018;98(1):21-8.
64. Chopra T, Awali RA, Biedron C, Vallin E, Bheemreddy S, Saddler CM, et al. Predictors of *Clostridium difficile* infection-related mortality among older adults. *American Journal of Infection Control*. 2016;44(11):1219-23.
65. Barbut F, Delmee M, Brazier JS, Petit JC, Poxton IR, Rupnik M, et al. A European survey of diagnostic methods and testing protocols for *Clostridium difficile*. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the*

- European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2003;9(10):989-96.
66. Barbut F, Mastrantonio P, Delmee M, Brazier J, Kuijper E, Poxton I. Prospective study of *Clostridium difficile* infections in Europe with phenotypic and genotypic characterisation of the isolates. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2007;13(11):1048-57.
67. Davies KA, Longshaw CM, Davis GL, Bouza E, Barbut F, Barna Z, et al. Underdiagnosis of *Clostridium difficile* across Europe: the European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of *Clostridium difficile* infection in hospitalised patients with diarrhoea (EUCLID). *The Lancet Infectious diseases*. 2014;14(12):1208-19.
68. Davies K, Davis G, Barbut F, Eckert C, Petrosillo N, Wilcox MH. Variability in testing policies and impact on reported *Clostridium difficile* infection rates: results from the pilot Longitudinal European *Clostridium difficile* Infection Diagnosis surveillance study (LuCID). *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2016;35(12):1949-56.
69. Le Monnier A, Duburcq A, Zahar JR, Corvec S, Guillard T, Cattoir V, et al. Hospital cost of *Clostridium difficile* infection including the contribution of recurrences in French acute-care hospitals. *Journal of Hospital Infection*. 2015;91(2):117-22.
70. Evans CT, Safdar N. Current Trends in the Epidemiology and Outcomes of *Clostridium difficile* Infection. *Clinical Infectious Diseases*. 2015;60(suppl 2):S66-S71.
71. Reigadas E, Alcalá L, Marín M, Muñoz-Pacheco P, Catalán P, Martín A, et al. Clinical significance of direct cytotoxicity and toxigenic culture in *Clostridium difficile* infection. *Anaerobe*. 2016;37:38-42.
72. Furuya-Kanamori L, Marquess J, Yakob L, Riley TV, Paterson DL, Foster NF, et al. Asymptomatic *Clostridium difficile* colonization: epidemiology and clinical implications. *BMC Infectious Diseases*. 2015;15:516.
73. Hung YP, Lee JC, Lin HJ, Liu HC, Wu YH, Tsai PJ, et al. Clinical impact of *Clostridium difficile* colonization. *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*. 2015;48(3):241-8.
74. Riggs MM, Sethi AK, Zabarsky TF, Eckstein EC, Jump RL, Donskey CJ. Asymptomatic carriers are a potential source for transmission of epidemic and nonepidemic *Clostridium difficile* strains among long-term care facility residents. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2007;45(8):992-8.
75. Ziakas PD, Zacharioudakis IM, Zervou FN, Grigoras C, Pliakos EE, Mylonakis E. Asymptomatic Carriers of Toxigenic *C. difficile* in Long-Term Care Facilities: A Meta-Analysis of Prevalence and Risk Factors. *PLoS ONE*. 2015;10(2):e0117195.
76. Reintam Blaser A, Deane AM, Fruhwald S. Diarrhoea in the critically ill. *Current opinion in critical care*. 2015;21(2):142-53.
77. Martinez AP, Azevedo GRd. The Bristol Stool Form Scale: its translation to Portuguese, cultural adaptation and validation. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*. 2012;20:583-9.

78. Kaffarnik M, Isner C, Hamsen U. [Clostridium difficile Infection: Epidemiology, Clinical Presentation, Therapy and Prevention]. Zentralblatt für Chirurgie. 2018;143(3):241-9.
79. Iv ECO, Iii ECO, Johnson DA. Clinical update for the diagnosis and treatment of Clostridium difficile infection. World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics. 2014;5(1):1-26.
80. Alcalá Hernández L, Reigadas Ramírez E, Bouza Santiago E. Clostridium difficile infection. Medicina Clínica (English Edition). 2017;148(10):456-63.
81. Ong GKB, Reidy TJ, Huk MD, Lane FR. Clostridium difficile colitis: A clinical review. The American Journal of Surgery. 2017;213(3):565-71.
82. Olsen MA, Yan Y, Reske KA, Zilberberg MD, Dubberke ER. Recurrent Clostridium difficile infection is associated with increased mortality. Clinical Microbiology and Infection. 2015;21(2):164-70.
83. McConnie R, Kastl A. Clostridium Difficile, Colitis, and Colonoscopy: Pediatric Perspective. Current gastroenterology reports. 2017;19(8):34.
84. Adams SD, Mercer DW. Fulminant Clostridium difficile colitis. Current opinion in critical care. 2007;13(4):450-5.
85. Torrijo Gómez I, Uribe Quintana N, Catalá Llosa J, Raga Vázquez J, Sellés Dechent R, Martín Dieguez MC, et al. Colitis fulminante por Clostridium difficile. Cirugía Española. 2016;39(8):567-9.
86. Vincent J-L, Wilcox MH, Vehreschild MJGT, Nord CE. Clostridium difficile Infection. Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine 2015. 2015(2191-5709):pp 25-35.
87. Almeida Filho Nd, Castiel LD, Ayres JR. Riesgo: concepto básico de la epidemiología. Salud Colectiva. 2009;5:323-44.
88. Eze P, Balsells E, Kyaw MH, Nair H. Risk factors for Clostridium difficile infections – an overview of the evidence base and challenges in data synthesis. Journal of Global Health. 2017;7(1):010417.
89. Rao K, Micic D, Chenoweth E, Deng L, Galecki AT, Ring C, et al. Poor functional status as a risk factor for severe Clostridium difficile infection in hospitalized older adults. Journal of the American Geriatrics Society. 2013;61(10):1738-42.
90. Asempa TE, Nicolau DP. Clostridium difficile infection in the elderly: an update on management. Clinical Interventions in Aging. 2017;12:1799-809.
91. Yoshikawa TT, Norman DC. Geriatric Infectious Diseases: Current Concepts on Diagnosis and Management. Journal of the American Geriatrics Society. 2017;65(3):631-41.
92. Blanco Pérez Á, Ruiz Morales Ó, Otero Regino W, Gómez Zuleta M. Infección por Clostridium difficile en ancianos. Revista Colombiana de Gastroenterología. 2013;28:53-63.
93. Khanafer N, Barbut F, Eckert C, Perraud M, Demont C, Luxemburger C, et al. Factors predictive of severe Clostridium difficile infection depend on the definition used. Anaerobe. 2016;37:43-8.
94. Karas JA, Enoch DA, Aliyu SH. A review of mortality due to Clostridium difficile infection. Journal of Infection. 2010;61(1):1-8.
95. Loo VG, Bourgault A-M, Poirier L, Lamothe F, Michaud S, Turgeon N, et al. Host and Pathogen Factors for Clostridium difficile Infection and Colonization. New England Journal of Medicine. 2011;365(18):1693-703.

96. Khanafer N, Voirin N, Barbut F, Kuijper E, Vanhems P. Hospital management of *Clostridium difficile* infection: a review of the literature. *Journal of Hospital Infection*. 2015;90(2):91-101.
97. Sartelli M, Malangoni MA, Abu-Zidan FM, Griffiths EA, Di Bella S, McFarland LV, et al. WSES guidelines for management of *Clostridium difficile* infection in surgical patients. *World Journal of Emergency Surgery : WJES*. 2015;10.
98. McFarland LV, Mulligan ME, Kwok RY, Stamm WE. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. *The New England journal of medicine*. 1989;320(4):204-10.
99. Suljagic V, Miljkovic I, Starcevic S, Stepic N, Kostic Z, Jovanovic D, et al. Risk factors for *Clostridium difficile* infection in surgical patients hospitalized in a tertiary hospital in Belgrade, Serbia: a case-control study. *Antimicrobial resistance and infection control*. 2017;6:31.
100. Lital Meyer S, Ricardo Espinoza A, Rodrigo Quera P. Infección por *clostridium difficile*: epidemiología, diagnóstico y estrategias terapéuticas. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2014;25(3):473-84.
101. Sabah T S. DIARREA ASOCIADA A ANTIBIÓTICOS. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2015;26(5):687-95.
102. Bouza E, Del Vecchio MG, Reigadas E. Spectrum of *Clostridium difficile* infections: Particular clinical situations. *Anaerobe*. 2016;37:3-7.
103. Monge D, Morosini M, Millán I, Pérez Canosa C, Manso M, Guzman MF, et al. Factores de riesgo de infección por *Clostridium difficile* en pacientes hospitalizados. *Medicina Clínica*. 2011;137(13):575-80.
104. Gao T, He B, Pan Y, Deng Q, Sun H, Liu X, et al. Association of *Clostridium difficile* infection in hospital mortality: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Infection Control*. 2015;43(12):1316-20.
105. De Andres S, Ferreira D, Ibanez M, Ballesteros A, Garcia B, Agud JL. *Clostridium difficile* colitis associated with valaciclovir. *Pharmacy world & science : PWS*. 2004;26(1):8-9.
106. Balch A, Wendelboe AM. Antibiotic prophylaxis for surgical site infections as a risk factor for infection with *Clostridium difficile*. 2017;12(6):e0179117.
107. Hebbard AIT, Slavin MA, Reed C, Trubiano JA, Teh BW, Haeusler GM, et al. Risks factors and outcomes of *Clostridium difficile* infection in patients with cancer: a matched case-control study. *Supportive care in cancer : official journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*. 2017;25(6):1923-30.
108. Kistangari G, Lopez R, Shen B. Frequency and Risk Factors of *Clostridium difficile* Infection in Hospitalized Patients With Pouchitis: A Population-based Study. *Inflammatory bowel diseases*. 2017;23(4):661-71.
109. Tleyjeh IM, Bin Abdulhak AA, Riaz M, Alasmari FA, Garbati MA, AlGhamdi M, et al. Association between proton pump inhibitor therapy and *clostridium difficile* infection: a contemporary systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7(12):e50836.
110. Azab M, Doo L, Doo DH, Elmofti Y, Ahmed M, Cadavona JJ, et al. Comparison of the Hospital-Acquired *Clostridium difficile* Infection Risk of Using Proton Pump Inhibitors versus Histamine-2 Receptor Antagonists for Prophylaxis and Treatment of Stress Ulcers: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Gut and liver*. 2017;11(6):781-8.



111. Trifan A, Stanciu C, Girleanu I, Stoica OC, Singeap AM, Maxim R, et al. Proton pump inhibitors therapy and risk of *Clostridium difficile* infection: Systematic review and meta-analysis. *World journal of gastroenterology*. 2017;23(35):6500-15.
112. Wombwell E, Chittum ME, Leaser KR. Inpatient Proton Pump Inhibitor Administration and Hospital-Acquired *Clostridium difficile* Infection: Evidence and Possible Mechanism. *The American Journal of Medicine*. 2018;131(3):244-9.
113. Barletta JF, Sclar DA. Proton pump inhibitors increase the risk for hospital-acquired *Clostridium difficile* infection in critically ill patients. *Critical care*. 2014;18(6):714.
114. Mamic P, Heidenreich PA, Hedlin H, Tennakoon L, Staudenmayer KL. Hospitalized Patients with Heart Failure and Common Bacterial Infections: A Nationwide Analysis of Concomitant *Clostridium Difficile* Infection Rates and In-Hospital Mortality. *Journal of Cardiac Failure*. 2016;22(11):891-900.
115. Khanafer N, Vanhems P, Barbut F, Luxemburger C. Factors associated with *Clostridium difficile* infection: A nested case-control study in a three year prospective cohort. *Anaerobe*. 2017;44:117-23.
116. Becerra MG, Ospina S, Atehortúa SL, Berbesi DY. Factores de riesgo para la infección por *Clostridium difficile*. *Infectio*. 2011;15(4):220-6.
117. DuPont HL. Approach to the patient with infectious colitis. *Current opinion in gastroenterology*. 2012;28(1):39-46.
118. Cardona DM, Rand KH. Evaluation of repeat *Clostridium difficile* enzyme immunoassay testing. *Journal of clinical microbiology*. 2008;46(11):3686-9.
119. Garimella PS, Agarwal R, Katz A. The utility of repeat enzyme immunoassay testing for the diagnosis of *Clostridium difficile* infection: a systematic review of the literature. *Journal of postgraduate medicine*. 2012;58(3):194-8.
120. Spigaglia P, Barbanti F, Morandi M, Moro ML, Mastrantonio P. Diagnostic testing for *Clostridium difficile* in Italian microbiological laboratories. *Anaerobe*. 2016;37:29-33.
121. Planche T, Wilcox MH. Diagnostic Pitfalls in *Clostridium difficile* Infection. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2015;29(1):63-82.
122. Li YT, Cai HF, Wang ZH, Xu J, Fang JY. Systematic review with meta-analysis: long-term outcomes of faecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2016;43(4):445-57.
123. Planche T, Wilcox M. Reference assays for *Clostridium difficile* infection: one or two gold standards? *Journal of clinical pathology*. 2011;64(1):1-5.
124. Burnham C-AD, Carroll KC. Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection: an Ongoing Conundrum for Clinicians and for Clinical Laboratories. *Clinical Microbiology Reviews*. 2013;26(3):604-30.
125. Kachrimanidou M, Tegou Z, Chasampalioti M, Arvaniti K, Protonotariou E, Skoura L. A two-step approach improves the diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *Journal of Microbiological Methods*. 2017;143(Supplement C):17-9.
126. Morinaga Y, Akamatsu N, Matsuda J, Tateno H, Tomaru T, Tanaka A, et al. Diagnostic utilities of a fully automated molecular test for toxigenic *Clostridium difficile*. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2017;0:1.
127. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthakrishnan AN, Curry SR, Gilligan PH, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol*. 2013;108(4):478-98; quiz 99.

128. Acuña M R. Diarrea aguda. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2015;26(5):676-86.
129. Avila MB, Avila NP, Dupont AW. Recent Advances in the Diagnosis and Treatment of *Clostridium Difficile* Infection. *F1000Research*. 2016;5:F1000 Faculty Rev-118.
130. Chen S, Gu H, Sun C, Wang H, Wang J. Rapid detection of *Clostridium difficile* toxins and laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infections. *Infection*. 2017;45(3):255-62.
131. Peterson LR, Mehta MS, Patel PA, Hacek DM, Harazin M, Nagwekar PP, et al. Laboratory Testing for *Clostridium difficile* Infection. Light at the End of the Tunnel. 2011;136(3):372-80.
132. Brecher SM, Novak-Weekley SM, Nagy E. Laboratory Diagnosis of *Clostridium difficile* Infections: There Is Light at the End of the Colon. *Clinical Infectious Diseases*. 2013;57(8):1175-81.
133. Walter Zea J, Lina Salazar C. Enfermedad asociada a *Clostridium difficile*: prevalencia y diagnóstico por laboratorio. *Infectio*. 2012;16(4):211-22.
134. Ianosi-Irimie M, Morong D, Dragoni C, Schofield S. Comparison of Detection Methods for *Clostridium difficile*. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013;51(5):1648.
135. Walkty A, Lagacé-Wiens PRS, Manickam K, Adam H, Pieroni P, Hoban D, et al. Evaluation of an Algorithmic Approach in Comparison with the Illumigene Assay for Laboratory Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013;51(4):1152-7.
136. Gilligan PH. Optimizing the Laboratory Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection. *Clinics in Laboratory Medicine*. 2015;35(2):299-312.
137. Crobach MJ, Planche T, Eckert C, Barbut F, Terveer EM, Dekkers OM, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2016;22 Suppl 4:S63-81.
138. Chung HS, Lee M. Evaluation of the performance of C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE and its usefulness in a hospital setting with a high prevalence of *Clostridium difficile* infection. *Journal of investigative medicine : the official publication of the American Federation for Clinical Research*. 2017;65(1):88-92.
139. Seo JY, Jeong JH, Kim KH, Ahn JY, Park PW, Seo YH. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection: Comparison of Techlab C. diff Quik Chek Complete, Xpert C. difficile, and multistep algorithmic approach. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2017;31(6).
140. Velarde Ruiz-Velasco JA, Aldana-Ledesma JM, Ibarra-Estrada MA, Aguirre Diaz SA, Fernandez-Ramirez JA, Cardenas-Lara F, et al. Clinical and endoscopic features in patients with hospital-acquired diarrhea associated with *Clostridium difficile* infection. *Revista de gastroenterología de México*. 2017;82(4):301-8.
141. Rao K, Young VB. Fecal Microbiota Transplantation for the Management of *Clostridium difficile* Infection. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2015;29(1):109-22.
142. Boland GW, Lee MJ, Cats AM, Ferraro MJ, Matthia AR, Mueller PR. *Clostridium difficile* Colitis: Correlation of CT findings with severity of clinical disease. *Clinical Radiology*. 1995;50(3):153-6.

143. Boyce JM, Ligi C, Kohan C, Dumigan D, Havill NL. Lack of Association Between the Increased Incidence of *Clostridium difficile*-Associated Disease and the Increasing Use of Alcohol-Based Hand Rubs. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2006;27(05):479-83.
144. Miller RR, Jick H. Antibiotic-associated colitis. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 1977;22(1):1-6.
145. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive care medicine*. 2017;43(3):304-77.
146. Nelson RL, Suda KJ, Evans CT. Antibiotic treatment for *Clostridium difficile*-associated diarrhoea in adults. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2017;3:Cd004610.
147. Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2014;20 Suppl 2:1-26.
148. Odenholt I, Walder M, Wullt M. Pharmacodynamic studies of vancomycin, metronidazole and fusidic acid against *Clostridium difficile*. *Chemotherapy*. 2007;53(4):267-74.
149. Stevens VW, Nelson RE, Schwab-Daugherty EM, Khader K, Jones MM, Brown KA, et al. Comparative Effectiveness of Vancomycin and Metronidazole for the Prevention of Recurrence and Death in Patients With *Clostridium difficile* Infection. *JAMA internal medicine*. 2017;177(4):546-53.
150. Mullane K. Fidaxomicin in *Clostridium difficile* infection: latest evidence and clinical guidance. *Therapeutic Advances in Chronic Disease*. 2014;5(2):69-84.
151. Whitman CB, Czosnowski QA. Fidaxomicin for the treatment of *Clostridium difficile* infections. *The Annals of pharmacotherapy*. 2012;46(2):219-28.
152. Penziner S, Dubrovskaya Y, Press R, Safdar A. Fidaxomicin therapy in critically ill patients with *Clostridium difficile* infection. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015;59(3):1776-81.
153. Lee C, Louie TJ, Weiss K, Valiquette L, Gerson M, Arnott W, et al. Fidaxomicin versus Vancomycin in the Treatment of *Clostridium difficile* Infection: Canadian Outcomes. *The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology = Journal Canadien des Maladies Infectieuses et de la Microbiologie Médicale*. 2016;2016:8048757.
154. Britt NS, Steed ME, Potter EM, Clough LA. Tigecycline for the Treatment of Severe and Severe Complicated *Clostridium difficile* Infection. *Infectious diseases and therapy*. 2014;3(2):321-31.
155. Gergely Szabo B, Kadar B, Szidonia Lenart K, Dezsényi B, Kunovszki P, Fried K, et al. Use of intravenous tigecycline in patients with severe *Clostridium difficile* infection: a retrospective observational cohort study. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2016;22(12):990-5.
156. Manea E, Sojo-Dorado J, Jipa RE, Benea SN, Rodriguez-Bano J, Hristea A. The role of tigecycline in the management of *Clostridium difficile* infection: a retrospective cohort study. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2017.

157. Khanna S, Pardi DS. Clostridium difficile infection: management strategies for a difficult disease. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*. 2014;7(2):72-86.
158. Mogg GA, George RH, Youngs D, Johnson M, Thompson H, Burdon DW, et al. Randomized controlled trial of colestipol in antibiotic-associated colitis. *The British journal of surgery*. 1982;69(3):137-9.
159. O'Horo J, Safdar N. The role of immunoglobulin for the treatment of Clostridium difficile infection: a systematic review. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2009;13(6):663-7.
160. Shah N, Shaaban H, Spira R, Slim J, Boghossian J. Intravenous Immunoglobulin in the Treatment of Severe Clostridium Difficile Colitis. *Journal of Global Infectious Diseases*. 2014;6(2):82-5.
161. Yun B, Oh S, Griffiths MW. Lactobacillus acidophilus modulates the virulence of Clostridium difficile. *Journal of dairy science*. 2014;97(8):4745-58.
162. McFarland LV, Ship N, Auclair J, Millette M. Primary prevention of Clostridium difficile infections with a specific probiotic combining Lactobacillus acidophilus, L. casei, and L. rhamnosus strains: assessing the evidence. *Journal of Hospital Infection*. 2018;99(4):443-52.
163. Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent Clostridium difficile infection. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2011;53(10):994-1002.
164. Rohlke F, Stollman N. Fecal microbiota transplantation in relapsing Clostridium difficile infection. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*. 2012;5(6):403-20.
165. Gualtero SM, Abril LA, Camelo N, Sanchez SD, Davila FA, Arias G, et al. Características de la infección por Clostridium difficile en una institución de alta complejidad y reporte de la circulación en Colombia de la cepa hipervirulenta NAP1/027. *Biomédica*. 2017;37(4):466-72.
166. Depestel DD, Aronoff DM. Epidemiology of Clostridium difficile infection. *Journal of pharmacy practice*. 2013;26(5):464-75.
167. Bouza E, Rodriguez-Creixems M, Alcalá L, Marin M, De Egea V, Braojos F, et al. Is Clostridium difficile infection an increasingly common severe disease in adult intensive care units? A 10-year experience. *J Crit Care*. 2015;30(3):543-9.
168. Khanafer N, Toure A, Chambrier C, Cour M, Reverdy ME, Argaud L, et al. Predictors of Clostridium difficile infection severity in patients hospitalised in medical intensive care. *World Journal of Gastroenterology*. 2013;19(44):8034-41.
169. Oñate-Gutiérrez JM, Villegas MV, Correa A. Prevalencia y factores relacionados con la infección por Clostridium difficile en un centro hospitalario de alta complejidad en Cali (Colombia). *Infectio*. 2017;21(1):9-14.
170. Alvarez-Lerma F, Palomar M, Villasboa A, Amador J, Almirall J, Posada MP, et al. Epidemiological study of Clostridium difficile infection in critical patients admitted to the Intensive Care Unit. *Med Intensiva*. 2014;38(9):558-66.
171. Legenza L, Barnett S, Rose W, Bianchini M, Safdar N, Coetzee R. Epidemiology and outcomes of Clostridium difficile infection among hospitalised patients: results of a multicentre retrospective study in South Africa. *BMJ global health*. 2018;3(4):e000889.

172. Salva S, Duran N, Rodriguez V, Nieto L, Serra J, Rello J. Clostridium difficile in the ICU: study of the incidence, recurrence, clinical characteristics and complications in a university hospital. *Med Intensiva*. 2014;38(3):140-5.
173. Marín J. Factores asociados a la infección para Clostridium difficile en un hospital universitario de Bogotá.
174. Na'amnih W, Adler A, Miller-Roll T, Cohen D, Carmeli Y. Risk factors for recurrent Clostridium difficile infection in a tertiary hospital in Israel. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2018;37(7):1281-8.
175. Riley TV, Kimura T. The Epidemiology of Clostridium difficile Infection in Japan: A Systematic Review. *Infectious diseases and therapy*. 2018;7(1):39-70.
176. Lee JC, Hung YP, Lin HJ, Tsai PJ, Ko WC. Clostridium difficile Infections in Medical Intensive Care Units of a Medical Center in Southern Taiwan: Variable Seasonality and Disease Severity. *PLoS One*. 2016;11(8):e0160760.
177. Tirlapur N, Puthuchearu ZA, Cooper JA, Sanders J, Coen PG, Moonesinghe SR, et al. Diarrhoea in the critically ill is common, associated with poor outcome, and rarely due to Clostridium difficile. *Scientific reports*. 2016;6:24691.
178. Leffler DA, Lamont JT. Clostridium difficile infection. *The New England journal of medicine*. 2015;372(16):1539-48.
179. Bouza E, Munoz P, Alonso R. Clinical manifestations, treatment and control of infections caused by Clostridium difficile. *Clinical microbiology and infection* : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2005;11 Suppl 4:57-64.
180. Shin JH, Chaves-Olarte E, Warren CA. Clostridium difficile Infection. *Microbiology spectrum*. 2016;4(3).
181. Smith AM, Wuerth BA, Wiemken TL, Arnold FW. Prevalence of Clostridium difficile infection presenting to US EDs. *The American journal of emergency medicine*. 2015;33(2):238-43.
182. Kundrapu S, Jury LA, Sitzlar B, Sunkesula VC, Sethi AK, Donskey CJ. Easily modified factors contribute to delays in diagnosis of Clostridium difficile infection: a cohort study and intervention. *Journal of clinical microbiology*. 2013;51(7):2365-70.
183. Cao F, Chen CX, Wang M, Liao HR, Wang MX, Hua SZ, et al. Updated meta-analysis of controlled observational studies: proton-pump inhibitors and risk of Clostridium difficile infection. *The Journal of hospital infection*. 2018;98(1):4-13.
184. Oshima T, Wu L, Li M, Fukui H, Watari J, Miwa H. Magnitude and direction of the association between Clostridium difficile infection and proton pump inhibitors in adults and pediatric patients: a systematic review and meta-analysis. *Journal of gastroenterology*. 2018;53(1):84-94.
185. Kurti Z, Lovasz BD, Mandel MD, Csima Z, Golovics PA, Csako BD, et al. Burden of Clostridium difficile infection between 2010 and 2013: Trends and outcomes from an academic center in Eastern Europe. *World journal of gastroenterology*. 2015;21(21):6728-35.
186. Sivapalasingam S, Blaser MJ. Bacterial Diarrhea in HIV-Infected Patients: Why Clostridium difficile, and Why Now? *Clinical Infectious Diseases*. 2005;41(11):1628-30.
187. Imlay H, Kaul D, Rao K. Risk factors for Clostridium difficile infection in HIV-infected patients. *SAGE Open Medicine*. 2016;4:2050312116684295.

188. Di Bella S, Friedrich AW, García-Almodóvar E, Gallone MS, Taglietti F, Topino S, et al. Clostridium difficile infection among hospitalized HIV-infected individuals: epidemiology and risk factors: results from a case-control study (2002-2013). BMC Infectious Diseases. 2015;15(1):194.
189. Collini PJ, Bauer M, Kuijper E, Dockrell DH. Clostridium difficile infection in HIV-seropositive individuals and transplant recipients. The Journal of infection. 2012;64(2):131-47.